



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

**Medição de proteínas séricas e imunoglobulinas como indicador da
transferência de imunidade passiva em vitelos**

Ana Raquel Nabais Ussman

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Carlos Manuel Lopes Vieira Martins
Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima
Doutor George Thomas Stilwell

ORIENTADOR

Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima

2011

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

**Medição de proteínas séricas e imunoglobulinas como indicador da
transferência de imunidade passiva em vitelos**

Ana Raquel Nabais Ussman

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Carlos Manuel Lopes Vieira Martins
Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima
Doutor George Thomas Stilwell

ORIENTADOR

Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima

2011

LISBOA

Agradecimentos

Gostaria de agradecer ao Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima por me orientar no estágio e na elaboração da dissertação de mestrado.

Ao Sr. Manuel Barata e funcionários da exploração Pinhalgados, em Pegões por me deixarem efectuar o estudo nas suas instalações e animais sem quaisquer restrições.

A todos os Professores e Médicos Veterinários que me ensinaram e tornaram possível a minha aprendizagem.

Às minhas amigas Filipa, Marta F., Marta M., Vera, Lúcia, Sara, Carina, Andreia, Diana, Carla e ao Pedro por terem partilhado e vivido comigo muitos momentos difíceis mas também as melhores experiências.

Aos meus Pais, Irmão e Avós pelo apoio e conselhos sábios ao longo da minha vida e percurso académico.

Medição de proteínas séricas e imunoglobulinas como indicador da transferência de imunidade passiva em vitelos

Resumo

Os vitelos nascem com níveis muito baixos de imunoglobulinas, estando dependentes da ingestão de colostro para obterem imunidade passiva. A imunidade passiva em vitelos tem grande influência na saúde dos mesmos durante as primeiras semanas de vida. O objectivo deste trabalho experimental foi avaliar o estado da imunidade passiva em vitelos macho provenientes de explorações leiteiras e relacioná-lo com a incidência de doença. Para determinar o estado da imunidade recolheram-se amostras de sangue e efectuaram-se dois tipos de análises: medição da proteína sérica através do refractómetro e determinação da concentração de imunoglobulinas através do teste de precipitação do sulfito de sódio. A saúde dos vitelos foi seguida durante o período de um mês com base em parâmetros como: reflexo de sucção, estado de hidratação, estado do umbigo, frequência cardíaca e respiratória, auscultação cardíaca e pulmonar, aspecto das fezes, temperatura rectal e atitude geral. Os vitelos faziam parte de dois grupos, que chegaram à exploração com uma semana de intervalo. Um dos grupos foi alojado num pavilhão fechado em cubículos individuais e o outro em casotas no exterior. Neste estudo 14,3% dos vitelos tinham níveis de imunoglobulinas <500 mg/dl ou 500-1000 mg/dl e valores de proteína total sérica <5,5 g/dl; 62,9% dos vitelos com níveis de imunoglobulinas entre 500-1000 mg/dl e valores de proteína total sérica >5,5 g/dl e 22,9% dos vitelos com níveis de imunoglobulinas >1500 mg/dl e valores de proteína total sérica >5,5g/dl. Foi encontrada uma associação mais forte entre a ocorrência de doença e o tipo de alojamento ($p= 0,005$), do que com o nível de imunidade passiva ($p= 0,151$). O grupo de vitelos alojado no pavilhão fechado apresentou taxas de doença superiores, principalmente do tipo respiratório, em relação ao grupo de vitelos alojados em casotas individuais no exterior.

Palavras-chave: Imunidade passiva, colostro, incidência de doença, factores de “*stress*”, tipo de alojamento.

Serum protein and immunoglobulins measurement as an indicator of failure of passive transfer in calves

Abstract

Calves are born with very low levels of immunoglobulins, being dependent of colostrum ingestion to obtain passive immunity. Passive immunity has great influence in calves' health during the first weeks of life. The objective of this experimental work was to assess the passive immunity status of male calves from dairy farms and to relate that with their disease occurrence. To assess their passive immunity status a blood sample was drawn from the jugular vein and two parameters were measured: serum total protein with the refractometer and immunoglobulin concentration by the sodium sulfite turbidity test. The calves' health was followed during a month period based on the following parameters: suction reflex, hydration status, navel condition, cardiac and respiratory rate, cardiac and pulmonary auscultation, feces score, rectal temperature and overall attitude. The calves belonged to two groups that arrived at the farm one week apart. One of the groups was housed in a closed barn in individual cubicles and the other was housed in individual hutches outside. In this study 14,3% of the calves had immunoglobulin levels <500 mg/dl or 500-1000 mg/dl and serum total protein values <5,5 g/dl; 62,9% of the calves had immunoglobulin levels ranging 500-1000 mg/dl and serum total protein >5,5 g/dl and 22,9% of the calves had immunoglobulin levels >1500 mg/dl and serum total protein values >5,5 g/dl. A greater association was found between disease occurrence and housing type ($p=0,005$) than with passive immunity status ($p=0,151$). The group of calves housed in the closed barn presented greater disease rate, mainly respiratory disease, compared to the group of calves housed in individual hutches outside.

Key-words: Passive immunity, colostrum, disease occurrence, stress factors, housing type.

Índice:

Parte I - Estágio	1
1 - Descrição do estágio	1
2 - Casos clínicos acompanhados	1
Parte II - Medição de proteínas séricas e imunoglobulinas como indicador da transferência de imunidade passiva em vitelos	3
1 – Introdução	3
2- Imunidade	3
2.1 - Imunidade Passiva	4
2.1.1 -Absorção de imunoglobulinas	5
3 - Colostro	6
3.1 - Factores que influenciam a qualidade do colostro	8
3.2 - Avaliação da qualidade do colostro	11
3.2.1 - Colostrómetro	11
3.3 - Administração de colostro	12
3.3.1 - Método natural	12
3.3.2 - Métodos artificiais	14
3.3.2.1 - Biberão	14
3.3.2.2 - Entubação esofágica	15
3.3.2.3 - Balde	15
3.4 - Diferenças em vitelos de leite/carne	15
3.5 - Volume e Tempo de alimentação	16
3.6 - Outros efeitos benéficos do colostro	17
3.7 - Armazenamento e manipulação	18
3.8 - Pasteurização do colostro	19
3.9 - Substitutos/ Suplementos de colostro	20
4 – Monitorização	21
5 - Métodos laboratoriais para pesquisa de falha de transferência imunitária passiva	21
5.1 - Proteína Total através do refractómetro	22
5.2 - Teste de precipitação com sulfito de sódio	23
5.3 - Outros testes	23
5.3.1 - Teste de precipitação do sulfato de zinco	23
5.3.2 - Teste de coagulação de glutaraldeído	24
5.3.3 - Actividade da gamaglutamiltransferase (GGT) sérica	24

5.3.4 - Testes em laboratórios de referência.....	24
6 - Causas de alteração dos valores da proteína sérica	25
6.1 - Hipoalbuminémia com hipoglobulinémia	25
6.2 - Hipoalbuminémia com globulinas normais a aumentadas	25
6.3 - Hipoglobulinémia com albumina normal a aumentada.....	26
6.4 - Hiperalbuminémia	26
6.5 - Hiperalbuminémia com hiperglobulinémia	26
7 - Falha na transferência imunitária passiva	27
8 - Correção da falha na transferência imunitária passiva	29
9 - Doenças do período neonatal	30
9.1 - Septicémia	30
9.2 - Doença umbilical.....	32
9.3 - Diarreia	32
9.4 - Doença respiratória bovina.....	35
9.4.1 - Prevenção de doença respiratória.....	38
9.4.1.1 - Desinfecção do Umbigo	39
9.4.1.2 - Qualidade do ar.....	39
9.4.1.3 - Tipos de alojamento.....	40
9.4.1.3.1 - Casotas.....	40
9.4.1.3.2 - Alojamento individual em pavilhões	41
9.4.1.3.3 - Alojamento em grupo	42
9.4.1.4 - Temperatura	43
9.4.1.5 - Metafilaxia	43
10 -O papel da vacinação no controlo de doenças.....	45
11 - Alimentação	48
11.1 - Aditivos Alimentares.....	53
12 - Influência do “ <i>Stress</i> ”.....	55
13 - Trabalho experimental.....	57
13.2 - A exploração.....	57
13.3 - Materiais e Métodos	59
13.3.1 - Proteína Total sérica através do refractómetro – Protocolo.....	60
13.3.2 - Teste de precipitação com sulfito de sódio - Protocolo	60
13.3.3 – Exames físicos	61
13.3.4 – Tratamento de dados	62
13.4 – Resultados.....	63

13.4.1 - População em estudo.....	63
13.4.2 - Distribuição dos animais pelos valores de proteína total sérica	64
13.4.3 - Distribuição dos animais pela concentração de imunoglobulinas	65
13.4.4 - Divisão dos vitelos por categorias de imunidade.....	65
13.4.5 - Incidência de doença observada.....	67
13.4.6 - Mortalidade observada.....	68
13.4.7 - Incidência de doença.....	68
13.4.7.1 – Incidência de doença e valores de proteína total sérica	68
13.4.7.2 - Incidência doença e concentração de imunoglobulinas.....	69
13.4.7.3 - Incidência de doença e divisão por categoria imunidade	70
13.4.7.4 - Incidência de doença e grupo de vitelos	72
13.4.8 - Tipo de doença.....	73
13.4.8.1 - Tipo de doença e proteína total sérica	73
13.4.8.2 - Tipo de doença e concentração de imunoglobulinas	74
13.4.8.3 - Tipo de doença e divisão por categoria imunidade.....	75
13.4.8.4 - Tipo de doença e grupo de vitelos	76
13.4.9 – Cronicidade de doença respiratória observada.....	77
13.4.9.1 - Cronicidade de doença respiratória e proteína total sérica	77
13.4.9.2 - Cronicidade de doença respiratória e concentração de imunoglobulinas	79
13.4.9.3 - Cronicidade doença respiratória e divisão por categoria imunidade	81
13.4.9.4 - Cronicidade de doença respiratória e grupo de vitelos	82
13.4.10 - Imunidade nos dois grupos de vitelos.....	83
13.4.10.1 - Grupo de vitelos e divisão por categoria imunidade.....	83
13.4.10.2 - 1º Grupo – Categoria de imunidade, incidência, tipo de doença e cronicidade de doença respiratória	84
13.4.10.3 - 2º Grupo - Categoria de imunidade, incidência, tipo de doença e cronicidade de doença respiratória	87
13.5 - Discussão de resultados.....	89
13.5.1 - Limitações.....	89
13.5.2 – Classificação dos animais em relação à imunidade passiva.....	89
13.5.3 – Incidência de doença	91
13.5.4 – Tipo de doença observado.....	92
13.5.5 – Cronicidade de doença respiratória.....	93
13.5.6 – Imunidade passiva nos dois grupos de vitelos	93
13.5.7 – Alojamento dos vitelos.....	94

15.5.8 – Alimentação dos vitelos	95
13.5.9 – Factores de “ <i>stress</i> ”	96
13.5.10 – Plano de vacinação	96
13.5.11 – Medidas de biossegurança	97
14 - Conclusões	97
15 - Bibliografia	97
16 - Anexos.....	101
I - Tabela valores críticos da distribuição do Qui-quadrado	102

Índice de tabelas:

TABELA 1: DISTRIBUIÇÃO DE COLOSTRO COM BASE NA CONCENTRAÇÃO DE IMUNOGLOBULINAS, BASEADO EM DADOS DE BOVINOS HOLSTEIN DO ESTADO DE WASHINGTON, USA	8
TABELA 2: INTERPRETAÇÃO DO TESTE DE PRECIPITAÇÃO COM SULFITO DE SÓDIO.....	61
TABELA 3: IDADE DOS VITELOS (DIAS)	63
TABELA 4: DISTRIBUIÇÃO DOS VITELOS PELOS DOIS GRUPOS	63
TABELA 5: DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS PELOS VALORES DE PROTEÍNA TOTAL SÉRICA.....	64
TABELA 6: DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS PELA CONCENTRAÇÃO DE IMUNOGLOBULINAS	65
TABELA 7: DISTRIBUIÇÃO DOS VITELOS POR CONCENTRAÇÃO DE IMUNOGLOBULINAS E VALOR DE PROTEÍNA SÉRICA TOTAL.....	66
TABELA 8: DIVISÃO POR CATEGORIA DE IMUNIDADE.....	66
TABELA 9: INCIDÊNCIA E TIPO DE DOENÇA	67
TABELA 10: INCIDÊNCIA DE DOENÇA RESPIRATÓRIA CRÓNICA	67
TABELA 11: INCIDÊNCIA DE DOENÇA PELOS VALORES DE PROTEÍNA TOTAL SÉRICA	68
TABELA 12: INCIDÊNCIA DE DOENÇA E CONCENTRAÇÃO DE IMUNOGLOBULINAS	70
TABELA 13: INCIDÊNCIA DE DOENÇA E DIVISÃO POR CATEGORIA IMUNIDADE	71
TABELA 14: INCIDÊNCIA DE DOENÇA E GRUPO DE VITELOS	72
TABELA 15: TIPO DE DOENÇA E PROTEÍNA TOTAL SÉRICA	73
TABELA 16: TIPO DE DOENÇA E CONCENTRAÇÃO DE IMUNOGLOBULINAS.....	74
TABELA 17: TIPO DE DOENÇA E DIVISÃO POR CATEGORIA IMUNIDADE	75
TABELA 18: TIPO DE DOENÇA E GRUPO DE VITELOS.....	76
TABELA 19: TAXA DE CRONICIDADE DE DOENÇA RESPIRATÓRIA E PROTEÍNA TOTAL SÉRICA.....	78
TABELA 20: TAXA DE CRONICIDADE DE DOENÇA RESPIRATÓRIA E CONCENTRAÇÃO DE IMUNOGLOBULINAS.....	80
TABELA 21: CRONICIDADE DOENÇA RESPIRATÓRIA E DIVISÃO POR CATEGORIA IMUNIDADE	81
TABELA 22: CRONICIDADE DE DOENÇA RESPIRATÓRIA E GRUPO DE VITELOS	82
TABELA 23: GRUPO DE VITELOS E DIVISÃO POR CATEGORIA DE IMUNIDADE	83
TABELA 24: CATEGORIA DE IMUNIDADE, INCIDÊNCIA E TIPO DE DOENÇA NO 1º GRUPO	84
TABELA 25: CRONICIDADE DE DOENÇA RESPIRATÓRIA E CATEGORIA DE IMUNIDADE NO 1º GRUPO	86
TABELA 26: CATEGORIA DE IMUNIDADE, INCIDÊNCIA E TIPO DE DOENÇA NO 2º GRUPO	87
TABELA 27: CRONICIDADE DE DOENÇA RESPIRATÓRIA E CATEGORIA DE IMUNIDADE NO 2º GRUPO	88

Índice de gráficos:

GRÁFICO 1 - SOBREVIVÊNCIA DE VITELOS LEITEIROS SEGUNDO A CONCENTRAÇÃO DE IgG	27
--	----

Índice de figuras:

FIGURA 1 - COLOSTRÓMETRO	11
FIGURA 2- REFRACTÓMETRO	22
FIGURA 3- EXEMPLO DE PAVILHÃO COM VENTILAÇÃO NATURAL E SEPARADORES SÓLIDOS ENTRE VITELOS	42
FIGURA 4- EXEMPLO DE ALOJAMENTO EM PAVILHÃO COM VENTILAÇÃO NATURAL SEM SEPARADORES SÓLIDOS	42
FIGURA 5 - CASOTAS NO EXTERIOR NA EXPLORAÇÃO EM ESTUDO	57
FIGURA 6 - PAVILHÃO FECHADO NA EXPLORAÇÃO EM ESTUDO.....	57
FIGURA 7 - BALDE DE ÁGUA/LEITE NA EXPLORAÇÃO. PODE-SE OBSERVAR COMO O BALDE TEM RESÍDUOS DE ALIMENTO CONCENTRADO E A ÁGUA ESTÁ SUJA.	58
FIGURA 8- EXEMPLO DE PRECIPITAÇÃO A 16% E 18%	61
FIGURA 9 - EXEMPLO DE SEPARADOR DE BALDES	96

Parte I - Estágio

1 - Descrição do estágio

O estágio realizado durante o período compreendido entre Setembro de 2010 e Março de 2011 foi de natureza profissional. Durante este estágio foram acompanhados pela autora desta dissertação de mestrado, dois médicos veterinários: Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima e Frank Mongini, DVM. O Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima, professor da Faculdade de Medicina Veterinária na Universidade Técnica de Lisboa, foi acompanhado nas saídas de campo realizadas na região da grande Lisboa e Ribatejo para explorações de vacas e cabras leiteiras, engorda de vitelos, entre outros, durante o período de 5 meses. O DVM Frank Mongini, médico veterinário privado, foi acompanhado na sua prática de medicina veterinária ambulatoria em explorações maioritariamente de vacas leiteiras na zona de Santa Rosa, no estado da Califórnia, nos EUA, durante o período de 1 mês. Durante o estágio foi permitida a observação, assistência e discussão dos casos clínicos.

2 - Casos clínicos acompanhados

Nos vitelos foram observados casos de malformações congénitas como CVM (síndrome malformação complexa vertebral) e hérnias umbilicais, casos de alergia ao leite, diarreias, broncopneumonias, onfalites e hipoglicémia.

Nos bovinos adultos também foram observadas alterações congénitas como freemartinismo. Foram realizadas palpações rectais em vacas leiteiras para diagnóstico de gestação e detecção de problemas de fertilidade (sem demonstração deaios, inseminações repetidas sem sucesso, quistos ováricos, corpos lúteos persistentes, hipoplasia ovárica, mumificação fetal e endometrites). Também foram realizadas transferências de embriões. No aparelho reprodutor foram observados outros casos clínicos como metrites puerperais, retenções placentárias, torção uterina, distócias e prolapso vaginal.

A nível do úbere foram observados casos de mastites e foi observada a amputação de teto.

Foram realizados exames reprodutivos a touros com palpação rectal e análise de sémen. Em novilhos (5-6 meses de idade) foram realizadas castrações com elásticos. Nos touros foram observados casos de prolapsos rectais e hematoma no pénis.

A nível de aparelho locomotor foi observada uma luxação coxo-femural, lesões nas unhas como laminite, úlceras e abcessos.

Foram observados casos com alterações sistémicas como intoxicação por plantas tóxicas, hipocalcémias, cetoses, síndrome de vaca gorda e acidoses ruminais.

A nível de aparelho gastrointestinal foram observados casos de diarreias, deslocamentos de abomaso à direita e esquerda, obstrução intestinal, indigestões ruminais e úlceras de abomaso.

Houve participação em vacinações/desparasitações de manada.

Foi realizada uma cesariana num cadáver com objectivo de aprendizagem das técnicas cirúrgicas.

Foi observado um caso de actinomicose na mandíbula de uma vaca leiteira adulta.

Em caprinos foram observados casos de linfadenite caseosa, listeriose, toxémia de gestação, distócias, cesariana e participação em vacinação de manada.

Parte II - Medição de proteínas séricas e imunoglobulinas como indicador da transferência de imunidade passiva em vitelos

1 – Introdução

O estado imunitário nos animais é de crucial importância para a sobrevivência destes, pois permite evitar e combater infecções permitindo o seu crescimento e desenvolvimento normais. Os recém-nascidos precisam da imunidade passiva para combaterem os microorganismos durante as primeiras semanas de vida uma vez que o seu sistema imunitário é imaturo à nascença. Os bovinos estão dependentes da ingestão de colostro para a obtenção desta imunidade. A imunidade passiva tem grande influência na saúde, taxas de crescimento e produtividade dos animais.

Os vitelos macho são considerados um subproduto da produção leiteira e por isso nem sempre recebem a atenção e cuidados necessários. Entre estes, a administração de colostro é um dos procedimentos que pode não ser feito da maneira mais adequada. Geralmente estes animais são vendidos a explorações de engorda com poucas semanas de vida. É por isto, importante conhecer o estado de imunidade passiva dos animais, como indicador de boas práticas nas explorações de origem e da produtividade futura dos animais adquiridos.

Este estudo pretende avaliar a relação entre o estado da imunidade passiva de vitelos macho adquiridos por uma exploração de engorda e a saúde demonstrada pelos mesmos. No entanto o estado da saúde é influenciado por vários factores, como práticas de manejo, ambiente, níveis de “*stress*”, medidas de biossegurança, entre outros, que também podem ter influência nos resultados deste estudo pelo que devem ser alvo de observação e discussão.

2- Imunidade

A imunidade inata consiste na resposta imunológica não específica a antígenos. As respostas originadas por esta imunidade ocorrem imediatamente após o estímulo antigénico e durante algumas horas (0 a 4 horas) (Carrol & Forsberg, 2007), sendo consideradas a primeira linha de defesa a qualquer agressão infecciosa. A imunidade inata é constituída por barreiras naturais como a pele, mucosas, secreções lacrimais, urina, pH ácido no estômago e também pelo complemento e respostas celulares não específicas. No intestino, aparelho respiratório, pele e mucosas, bactérias constituintes de uma flora normal competem com bactérias invasivas. Este tipo de imunidade funciona como a primeira barreira, permitindo ao sistema imunitário adquirido montar uma resposta imunitária específica, podendo ser influenciado por

vários factores tais como feridas, desidratação, estado nutricional, genética e “*stress*”. Quando esta imunidade funciona correctamente, muitos dos agentes patogénicos que entram em contacto com os animais não causam doença, tanto por terem a sua entrada barrada pelas barreiras naturais como por serem eliminados prontamente (Carrol & Forsberg, 2007).

A imunidade adquirida é a parte do sistema imunitário que desenvolve respostas específicas a agentes invasores. Este sistema caracteriza-se pela produção de anticorpos direccionados a antígenos específicos e possui memória imunológica, o que permite que se desenvolva uma resposta mais rápida e eficiente em exposições subsequentes. A vacinação baseia-se neste tipo de imunidade (Carrol & Forsberg, 2007).

2.1 - Imunidade Passiva

A imunidade passiva define-se como a imunidade que os animais adquirem através da transferência de anticorpos e outros elementos protectores directamente da progenitora. Esta transferência pode fazer-se através da placenta durante a gestação e/ou pela ingestão de colostro. No caso dos bovinos, devido à estrutura sindesmocorial da placenta, esta transferência não ocorre durante a gestação. Os vitelos nascem praticamente sem imunoglobulinas e outros elementos imunitários no sangue, e o seu sistema imunitário ainda não se encontra completamente desenvolvido para responderem eficazmente à maior parte dos antígenos; por estas razões, estão completamente dependentes da transferência imunitária fornecida pelo colostro para protecção contra microorganismos presentes no ambiente durante as primeiras semanas de vida (Besser & Gay, 1999; Radostitis, Gay, Blood & Hinchcliff, 2000).

A imunidade transferida pelo colostro desempenha um papel protector muito importante na saúde dos vitelos. As imunoglobulinas protegem o organismo dos vitelos da entrada e proliferação de microrganismos patogénicos. Uma imunidade passiva eficaz está associada a menor gravidade e duração de doença e menores taxas de morbilidade e mortalidade no período neo-natal (McGuirk, 1998). Além dos efeitos de protecção da saúde no período neo-natal, uma boa imunidade passiva tem também efeitos a médio - longo prazo, influenciando a produtividade dos animais. Baixos níveis de imunoglobulinas estão associados a menores taxas de crescimento, e no caso de novilhas, menores produções leiteiras na 1ª e 2ª lactação, e maiores taxas de refugo na 1ª lactação (Besser & Gay, 1999; Beam *et al.*, 2009).

Após a absorção, as imunoglobulinas são distribuídas por vários locais do organismo. As imunoglobulinas presentes no colostro e outros elementos não absorvidos, exercem, também, uma acção de protecção local na parede intestinal, juntamente com imunoglobulinas que são

secretadas novamente desde a corrente sanguínea, durante várias semanas, protegendo os vitelos de infecções intestinais (Besser & Gay, 1999). Estes anticorpos podem proteger o vitelo de infecções virais (rotavírus e coronavírus) durante vários dias após o nascimento. A descida do nível de anticorpos secretados de novo para o intestino pode explicar a susceptibilidade aumentada dos vitelos para infecções intestinais virais entre os 4 e 10 dias de idade (McGuirk, 1998). Uma boa imunidade passiva também ajuda a proteger os vitelos de infecções respiratórias durante os primeiros meses de vida, reduzindo a ocorrência deste tipo de doença. Uma imunidade passiva adequada é o factor mais importante na protecção contra septicémias bacterianas durante o período neonatal (Besser & Gay, 1999).

2.1.1 -Absorção de imunoglobulinas

A absorção das imunoglobulinas faz-se através da parede intestinal dos vitelos recém-nascidos, apenas durante as primeiras 24 horas de vida, enquanto esta se encontra permeável a moléculas grandes. Estas são absorvidas pelo epitélio intestinal através de um processo de pinocitose, até aos vasos linfáticos que as transportam até à corrente sanguínea (Radostitis *et al.*, 2000). A eficiência de absorção das imunoglobulinas é de, aproximadamente, 20 a 35% (Corke, 2010). São depois transportadas para os diversos fluidos extravasculares e secreções corporais, dependendo da classe a que pertencem. Após estas primeiras horas de vida, a parede intestinal torna-se impermeável a moléculas grandes e a absorção de imunoglobulinas cessa. A absorção não é exclusiva para as imunoglobulinas, havendo absorção simultânea de proteínas, ocorrendo proteinúria durante as primeiras 24 horas de vida de proteínas de baixo peso molecular como a β -lactoglobulina (Radostitis *et al.*, 2000).

Após a ingestão quando o colostro atinge o abomaso forma-se um coágulo de caseína. A formação do coágulo no abomaso é essencial para proteger as imunoglobulinas da digestão no abomaso. As imunoglobulinas não ficam aprisionadas no coágulo, ficam no soro e deixam o abomaso pouco tempo depois da ingestão. Devido à retenção da gordura e proteína no abomaso, as imunoglobulinas chegam ao intestino antes das enzimas digestivas pancreáticas serem libertadas, escapando assim à digestão (McGuirk, 1998). No colostro também está presente um inibidor de tripsina em concentrações cerca de 100 vezes superiores às encontradas no leite, servindo para proteger as imunoglobulinas e outras proteínas da degradação proteolítica no tracto intestinal do vitelo (Godden, 2008). A zona de maior absorção de imunoglobulinas é o intestino delgado (Radostitis *et al.*, 2000).

A concentração sérica de imunoglobulinas atinge o máximo entre as 12 a 24 horas de idade (Radostitis *et al.*, 2000). Esta concentração vai diminuindo até às 3-4 semanas de idade, seguida de aumentos progressivos até às 7 semanas (McGuirk, 1998). A produção endógena

de anticorpos atinge níveis de protecção às 4 semanas de idade e os níveis máximos são atingidos entre as 8 e 12 semanas de idade (Radostitis *et al.*, 2000). O estabelecimento da imunidade activa está dependente de vários factores, como o nível de imunidade passiva adquirida, exposição a antígenos e agentes microbianos, manejo, ambiente, nutrição e idade do vitelo. Muitas vezes, a incapacidade de produção de anticorpos em vitelos que receberam colostro deve-se à interferência com anticorpos provenientes do colostro e por “*feedback*” negativo destes à produção endógena (Radostitis *et al.*, 2000). Grandes concentrações de imunoglobulinas maternas não inibem a produção endógena em idades mais avançadas (McGuirk, 1998).

3 - Colostro

O colostro é constituído por secreções lácteas das glândulas mamárias e por constituintes do soro sanguíneo materno, principalmente imunoglobulinas e proteínas séricas, mas também leucócitos, factores de crescimento, hormonas, citocinas, factores antimicrobianos não específicos e nutrientes (Godden, 2008). Alguns destes constituintes sofrem uma redução na sua concentração durante as primeiras seis lactações, o chamado leite de transição, atingindo concentrações mínimas que são encontradas no leite inteiro para venda (Godden, 2008).

A qualidade do colostro é determinada pela concentração de imunoglobulinas que contém, no entanto, esta é muito variável, podendo por si ser uma das causas de transferência imunitária passiva sem sucesso.

As imunoglobulinas constituintes do colostro são IgG, IgA e IgM, contribuindo respectivamente com 85 a 90%, 5% e 7% para o total de imunoglobulinas, com a IgG1 a contribuir para 80 a 90% do total de IgG (Godden, 2008).

As imunoglobulinas são transportadas do sangue para o colostro através de um processo activo, selectivo, mediado por receptores através do epitélio secretor mamário. Receptores no epitélio mamário alveolar captam imunoglobulinas do fluido extracelular que sofrem endocitose, transporte e finalmente libertação para as secreções luminas. Estes receptores são inactivados no epitélio mamário alveolar em resposta a concentrações crescentes de prolactina e o início da lactação (Godden, 2008). Este processo inicia-se 4-6 semanas antes do parto e por vezes continua até ao parto. Este processo activo resulta em níveis de IgG dez vezes superiores na secreção mamária em relação aos níveis presentes no sangue da vaca (Besser & Gay, 1999). Pequenas quantidades de IgA e IgM são produzidas por plasmócitos a nível local, na glândula mamária. Apesar de não estar bem compreendida, a transferência de IgE também

ocorre e pode estar envolvida na protecção precoce contra parasitas intestinais (Godden, 2008).

O conteúdo celular do colostro é cerca de 1×10^6 células/ml, constituído por leucócitos maternos imunologicamente activos, incluindo macrófagos, linfócitos T e B e neutrófilos. Cerca de 20 a 30% dos leucócitos são linfócitos. Estas células são absorvidas no intestino do vitelo e aumentam a resposta linfocitária a mitógenos não específicos, estimulam a fagocitose, a capacidade de destruição bacteriana e a resposta humoral imunitária nos vitelos (Radostitis, Gay, Blood & Hinchcliff, 2000). Considera-se que vitelos que ingerem colostro sem células estão menos protegidos contra doenças neonatais que vitelos que ingerem colostro completo. Estas células não são viáveis em colostros congelados, pasteurizados ou em substitutos de colostro. A função destas células continua a ser objecto de investigação (Godden, 2008; Corke, 2010).

Uma absorção adequada de imunoglobulinas está dependente tanto da concentração de imunoglobulinas presente no colostro como do volume produzido (McGuirk, 1998). Isto é, para o vitelo obter a quantidade necessária de imunoglobulinas tem de ingerir um volume adequado à sua capacidade de ingestão com uma concentração de imunoglobulinas apropriada para esse volume. Exemplificando, se uma vaca produz grandes volumes de colostro com pouca concentração de imunoglobulinas, o vitelo vai ingerir o volume que o satisfaz sem ingerir uma massa total de imunoglobulinas suficiente. Esta situação é muito comum em colostros de vacas Holstein-Frísia (McGuirk, 1998). O contrário também se verifica, se uma vaca produz reduzido volume de colostro, mesmo sendo muito concentrado em imunoglobulinas, o vitelo não vai obter a massa total destas suficiente para adquirir uma imunidade passiva adequada (McGuirk, 1998).

Existe uma correlação negativa entre a eficácia de absorção de imunoglobulinas e concentração destas no colostro. No entanto, vitelos que recebem colostro de excelente qualidade apresentam valores séricos superiores de imunoglobulinas. A absorção típica por um vitelo Holstein com 40 kg de peso que recebe colostro de boa qualidade (102 g/l de IgG) é de 20%, ou seja 40,8g de imunoglobulinas (McGuirk, 1998).

O colostro de boa qualidade contém uma concentração de imunoglobulinas superior a 50g/l (Godden, 2008).

Num estudo (Muller & Ellinger 1981) citado por Godden (2008), vacas Holstein produziram colostro com menor quantidade de imunoglobulinas (5,6%), do que vacas Guernsey (6,3%), Parda Suíça (6,6%), Ayrshire (8,1%) e Jersey (9,0%). Estas diferenças podem ser atribuídas a diferenças genéticas e/ou efeitos de diluição.

A tabela 1 refere-se a um estudo efectuado em 1200 vacas Holstein no estado de Washington, nos EUA por Besser & Gay (1999). Foi analisado o colostro da primeira ordenha quanto à concentração de IgG. Consegue-se observar uma grande variação na concentração de imunoglobulinas, o que sugere que administrando sempre o mesmo volume (2 litros) de colostro aos vitelos, 58% destes não vão obter a massa de imunoglobulinas necessária de 100g e a massa ideal de 150g não vai ser administrada a 80% dos bezerros. Apesar das 150 g serem o ideal apontado por este estudo, é assumido que é difícil de conseguir devido à concentração de imunoglobulinas presente na maior parte dos colostros, considerando as 100g como um objectivo razoável (Besser & Gay, 1999).

Tabela 1: Distribuição de colostro com base na concentração de Imunoglobulinas, baseado em dados de bovinos Holstein do estado de Washington, USA

Concentração de IgG ₁ (mg/ml)	Percentagem de colostros	Percentagem cumulativa
0-20	4.94	4.94
20-30	13.51	18.45
30-40	21.17	39.62
40-50	18.78	58.40
50-60	14.99	73.39
60-70	9.88	83.28
70-80	6.34	89.62
80-90	3.46	93.08
90-100	2.47	95.55
100+	4.44	100

-Adaptado de Besser & Gay (1999)

3.1 - Factores que influenciam a qualidade do colostro

São vários os factores que podem influenciar a qualidade do colostro produzido. Estes factores devem ser considerados a fim de minimizar as probabilidades de fornecer colostro com baixa concentração em imunoglobulinas.

Raça: As vacas de raça Jersey, Guernsey, Parda Suíça e Ayrshire produzem colostros com maior concentração em imunoglobulinas comparativamente com vacas da raça Holstein. Esta diferença pode ser resultado do efeito de diluição que ocorre em vacas Holstein por produzirem maiores volumes de colostro (Corke, 2010).

Número de lactação: A concentração de imunoglobulinas no colostro aumenta com o número de lactações de cada vaca, sendo a partir da 3ª lactação em diante que este efeito se verifica (Radostitis *et al.*, 2000). Isto ocorre devido a uma estimulação antigénica mais

prolongada no tempo, maior capacidade secretória e um sistema de transporte de imunoglobulinas mais eficiente nas vacas mais velhas (Corke, 2010). Num estudo por Besser & Gay (1999) efectuado em gado Holstein em Washington, EUA, foi observado que novilhas primíparas produziam colostro com concentração de imunoglobulinas semelhante a vacas em 3ª lactação. Normalmente, os produtores dão preferência a colostro de vacas mais velhas pelo maior espectro de imunidade presente, no entanto, neste estudo sugerem que colostro de novilhas pode ser melhor no sentido em que contém uma boa concentração de imunoglobulinas e maior número de anticorpos para doenças específicas de animais jovens.

Nutrição no período pré-parto: Existem estudos com resultados contraditórios em relação à influência da nutrição no período pré-parto na qualidade do colostro produzido. Num estudo (Blecha, Bulls & Olson, 1981) citado por Godden (2008), é demonstrado que a nutrição durante o período pré parto não afecta a concentração de imunoglobulinas no colostro. Noutro estudo (Lacetera, Bernabucci, Ronchi & Nardone, 1996) citado por Godden (2008) foi observado que vacas suplementadas com vitamina E e selénio no final da gestação produziam maiores volumes de colostro, quando comparadas com vacas não suplementadas, sendo todas alimentadas com uma dieta pré-parto deficiente em vitamina E e selénio. No entanto, a concentração de imunoglobulinas não sofreu alterações. Segundo Meinert & Hurley (1998), uma dieta mais rica em feno ou forragem sem concentrados aumenta a concentração de imunoglobulinas no colostro.

Altura do parto: Vários estudos (Morin, Constable, Maunsell & McCoy, 2001; Nardone, Lacetera, Bernabucci & Ronchi, 1997) citados por Godden (2008) demonstram que a exposição a temperaturas elevadas durante o fim da gestação está associada a produção de colostro de pior qualidade, com menores concentrações de imunoglobulinas, proteína total, caseína, lactoalbumina, gordura e lactose. Este efeito pode ser atribuído a menores ingestões de matéria seca devido ao “*stress*” provocado pelo calor resultando em ingestão insuficiente de nutrientes. As temperaturas elevadas provocam diminuição do fluxo sanguíneo ao tecido mamário, o que causa menor transferência de imunoglobulinas e nutrientes do sangue para o úbere, diminuição da actividade dos plasmócitos mamários e produção de IgA. As medidas de regulação de temperatura usadas para animais lactantes devem ser aplicadas também a animais durante o período pré parto (Radostitis *et al.*, 2000; Godden, 2008). Aparentemente a qualidade do colostro é superior em vacas que parem no Outono. A absorção do colostro também parece ser mais eficiente nesta altura (McGuirk, 1998).

Duração do período seco: Tendo em conta que a secreção de imunoglobulinas na glândula mamária se inicia 4-6 semanas antes do parto, a duração do período seco vai ter influência na secreção de imunoglobulinas. Besser & Gay (1999) não encontraram diferenças significativas

na concentração de imunoglobulinas no colostro a partir dos 30 dias de período seco. Outro estudo (Besser, Gay & Pritchett, 1991) citado por (McGuirk, 1998) mostra que a concentração de imunoglobulinas é máxima em vacas a que foi permitido um período seco de pelo menos 40 dias mas não mais que 90 dias.

Vacinação: A vacinação das vacas, 6 semanas antes do parto, aumenta a concentração de imunoglobulinas no colostro (Meinert & Hurley, 1998).

Mastite: Os vitelos de vacas com mastite têm tendencialmente concentrações séricas de imunoglobulinas mais baixas (Radostitis *et al.*, 2000). A infecção intra-mamária persistente durante o período não lactante não está associada a alterações na concentração de imunoglobulinas no colostro, mas a diminuição do volume produzido. O colostro de vacas com mastite clínica não deve ser fornecido aos vitelos (Godden, 2008).

Prematuridade: A prematuridade de nascimento pode resultar numa concentração mais baixa de imunoglobulinas no colostro (Radostitis *et al.*, 2000). Esta também diminui a eficiência de absorção de imunoglobulinas pelo vitelo (McGuirk, 1998). Se o parto for induzido com corticosteróides de acção curta, a absorção de imunoglobulinas pelo vitelo não é afectada (Radostitis *et al.*, 2000).

Ordenha: A secreção de imunoglobulinas na glândula mamária cessa após o parto. A primeira secreção mamária após o parto é a que possui maior concentração de imunoglobulinas. A concentração de imunoglobulinas baixa drasticamente nas ordenhas seguintes, passando aproximadamente para metade na 2ª ordenha e por volta da 5ª ordenha a concentração de imunoglobulinas é semelhante à encontrada durante o resto do período de lactação (Radostitis *et al.*, 2000). O tempo até à primeira ordenha também é importante, pois a concentração de imunoglobulinas vai descendo mesmo que a vaca não seja ordenhada. No entanto, desde que não se ultrapassem 8 horas após o parto, a descida é negligenciável (Besser & Gay, 1999). Num estudo (Moore, Tyler, Chigerwe, Dawes & Middleton, 2005) citado em Godden (2008) a recolha de colostro às 6, 10 ou 14 horas resultou numa diminuição de 17%, 27% e 33% respectivamente, na concentração de imunoglobulinas. Idealmente a colheita de colostro deve ser feita 1 a 2 horas após o parto, no máximo 6 horas depois.

O colostro de vacas pré-ordenhadas para redução do edema do úbere ou de vacas cujo colostro extravasa antes do parto não deve ser usado, pois contém baixas concentrações de imunoglobulinas (Radostitis *et al.*, 2000).

Volume de colostro: Geralmente quanto maior o volume de colostro produzido, menor é a sua concentração em imunoglobulinas, pelo que estes colostros não devem ser utilizados como primeira refeição (Radostitis *et al.*, 2000).

Tanque de colostro: Quando os colostros são misturados evitam-se as grandes variações de volume e concentração e consegue-se uma mistura de anticorpos para as doenças a que a manada está exposta, mas existe uma tendência para a mistura possuir uma concentração de imunoglobulinas demasiado baixa, devido à diluição causada pelos colostros demasiado volumosos (Radostitis *et al.*, 2000). É aconselhado fixar um volume máximo de colostro adicionado de cada um dos colostros individuais para evitar esta ocorrência. Um problema que pode advir deste método é a contaminação e proliferação de agentes patogénicos como a *Salmonella* spp., entre outros (Besser & Gay, 1999).

3.2 - Avaliação da qualidade do colostro

Avaliar a qualidade do colostro é útil para evitar fornecer colostro de baixa qualidade a vitelos recém-nascidos.

O conteúdo em imunoglobulinas varia muito entre colostros e este está directamente relacionado com o seu conteúdo em sólidos (McGuirk, 1998). O aspecto do colostro pode estar relacionado com a sua qualidade; quando mais espesso e cremoso, melhor será devido ao alto conteúdo em sólidos. A densidade do colostro é proporcional à sua concentração em imunoglobulinas, principalmente em vacas Holstein; o mesmo não se verifica em vacas da raça Jersey, cuja relação não é tão linear. O peso também pode ser usado como indicador da qualidade do colostro (Radostitis *et al.*, 2000)

3.2.1 - Colostrómetro

O colostrómetro é um hidrómetro que relaciona a gravidade específica das imunoglobulinas com a sua concentração (McGuirk, 1998). Este apresenta um código de cores para ajudar a classificar os colostros. Geralmente quanto maior a gravidade específica maior a qualidade do

Figura 1 -
Colostrómetro



colostro, por isso, seleccionar os colostros que se encontram na linha amarelo-verde (50mg/ml de imunoglobulinas) é o mais aconselhado (Besser & Gay, 1999).

Os colostrómetros classificam o colostro para um determinado volume de colostro que se vai dar aos vitelos, que são 2 litros. No entanto este não é um método infalível, pois, para estes valores o colostrómetro vai classificar 50% dos colostros de baixa concentração como apropriados (Besser & Gay, 1999). A sensibilidade e a especificidade do colostrómetro para identificar colostro de baixa qualidade é de 0,32 e 0,97, respectivamente (Godden, 2008).

Para o uso correcto do colostrómetro, devem-se ter alguns cuidados para

reduzir os erros de classificação. Deve-se permitir um período de espera de pelo menos 2 horas, para que o ar que possa estar aprisionado no colostro se liberte, e para que as temperaturas do colostro entrem em equilíbrio com as do ambiente (idealmente a 20°C) (Besser & Gay, 1999). A temperaturas mais baixas, o colostrómetro vai originar leituras erradas, classificando os colostros como tendo maior concentração de imunoglobulinas que a real. O contrário também se verifica, em temperaturas mais elevadas, os colostros são subvalorizados (McGuirk, 1998).

Existe outro método para avaliar a qualidade do colostro. Trata-se de um kit de imuno-ensaio chamado “*Colostrum Bovine IgG Quick Test Kit*”, de Midland Bio-Products nos EUA. Foi demonstrado que possuía uma sensibilidade e especificidade de 0,93 e 0,76, respectivamente, para detectar amostras de colostro de baixa qualidade. Este tem um custo de cerca de 4 dólares americanos por teste (em 2008), demora 20 min a correr e só fornece resultados positivo ou negativo, sem fornecer informação acerca da concentração de imunoglobulinas presente (Godden, 2008).

3.3 - Administração de colostro

Existem vários métodos de alimentação de colostro, uns mais eficazes que outros, para uma transferência imunitária passiva com sucesso. É importante conhecer as diferenças entre os diversos métodos para que a administração do colostro não seja o motivo de falha de transferência de imunidade passiva. Além do método, também é muito importante a quantidade de colostro que se administra, que muitas vezes está dependente do método de alimentação escolhido. De uma maneira geral, o método e a quantidade a administrar devem-se adaptar às condições da exploração em questão, às suas disponibilidades em mão de obra, à qualidade da mesma, o tipo e quantidade de colostro disponível.

3.3.1 - Método natural

O método de alimentação natural, isto é, mamar directamente da vaca, deveria ser o método mais eficaz; no entanto, tem as suas desvantagens e limitações, tornando-o um método pouco fiável.

As principais limitações são: a impossibilidade de saber quanto é que o vitelo mamou, estar dependente do vigor do vitelo à nascença e da sua vontade e capacidade de mamar e de se desconhecer a qualidade do colostro ingerido.

Apesar de estar demonstrado que a presença da vaca aumenta a taxa de absorção de imunoglobulinas, também aumenta o risco de transmissão de agentes patogénicos da vaca e

do seu ambiente. Os vitelos podem ingerir estrume e bactérias do ambiente enquanto procuram os tetos da vaca e enquanto mamam, sendo recomendada a separação do vitelo dentro de 1 a 2 horas após parto com administração de colostro pelos tratadores (Godden, 2008). Já foi demonstrado (Poulsen, Hartmann & McGuirk, 2002) que elevados números de bactérias no colostro podem interferir com a absorção de imunoglobulinas (Beam *et al.*, 2009). Em explorações leiteiras, devido ao tipo de vacas, este método encontra outras dificuldades, tais como a conformação pendular do úbere e tetos demasiado grandes, o que dificulta a obtenção do colostro pelos vitelos (Besser & Gay, 1999). Os vitelos de raça Jersey obtêm taxas de transferência imunitária eficiente mais altas do que vitelos Holstein com este método (Radostitis *et al.*, 2000).

No entanto, o maior problema deste método, em explorações leiteiras, é a possibilidade da concentração de imunoglobulinas ser inadequada no colostro. Existe grande variação, mas o volume médio de colostro ingerido por este método é de aproximadamente 2,5 litros. Tendo este valor em consideração, a concentração de imunoglobulinas no colostro deveria ser no mínimo de 40 mg/ml para a ingestão de imunoglobulinas atingir os 100 g. Como se pode ver na tabela 1, relativa a um estudo efectuado em gado Holstein no estado de Washington, EUA, uma proporção significativa de colostro não contém esta concentração mínima necessária. Isto é agravado nos casos de vitelos que não mamam o volume mínimo. Ajudar o vitelo a mamar na vaca pode aumentar a eficácia da transferência imunitária passiva, no entanto, em termos de manejo torna-se impossível assistir todos os vitelos e as taxas de falha na transferência da imunidade passiva permanecem elevadas mesmo com esta medida (Godden, 2008).

Este processo natural de obtenção de colostro está associado a percentagens elevadas de insucesso na transferência imunitária passiva (25 a 34% em bezerros que mamam naturalmente até as 6-8 horas de vida, e 18% em bezerros que mamam até às 18 horas de idade) (Besser & Gay, 1999). Este insucesso resulta principalmente da falta de vigor dos vitelos à nascença. Bezerros que sofreram um parto demorado, distócias, cesarianas ou manipulações obstétricas, estão predispostos a esta falta de vigor. Vitelos com edema da língua também vão ter dificuldades em mamar. A hipóxia temporária a que foram expostos durante o parto, resulta numa acidose respiratória e metabólica que tem um efeito depressor nos vitelos. A hipóxia atrasa a absorção e o tempo de impermeabilização do intestino, mas não afecta a capacidade absorptiva. A absorção total de imunoglobulinas até ao momento de impermeabilização do intestino não se altera, sendo a mesma em vitelos que não sofreram hipóxia. Não é a capacidade de absorção que está em causa, mas sim a falta da capacidade em se levantarem e mamearem (Godden, 2008).

Se os vitelos apresentarem dificuldades em mamar, também se devem considerar situações como carência congênita de iodo, “*stress*” pelo frio ou traumas resultantes do parto (Radostitis *et al.*, 2000).

Num estudo (Edwards & Broom, 1979) citado por Godden (2008) foi observado que 46% dos vitelos filhos de 2º partos ou vacas mais velhas falharam em mamar nas primeiras 6 horas de vida, enquanto que apenas 11% dos vitelos de novilhas falharam em mamar nas primeiras 6 horas de vida. Estes atrasos foram atribuídos às razões explicadas anteriormente.

Contudo se as vacas demonstrarem comportamento materno inadequado devido a doenças também podem impedir o vitelo de mamar (Radostitis *et al.*, 2000).

3.3.2 - Métodos artificiais

Existem vários métodos artificiais de administração de colostro que devem ser considerados. Estes métodos permitem uma ingestão de uma massa total de imunoglobulinas eficaz em volume adequado, desde que a qualidade e quantidade do colostro sejam controladas. Devem ser utilizados apenas colostros de elevada qualidade. Esses métodos são a administração através de biberão, de entubação esofágica e de balde.

Num estudo citado por Corke (2010) em que foram comparados os métodos de administração de colostro através de biberão e de entubação esofágica concluiu-se que ambos os métodos atingiam taxas de 100% de eficácia na transferência de imunidade passiva quando eram administrados 3 litros. Quando eram administrados 1,5 litros atingiram-se taxas de 100% pelo método do biberão e de 41,7% através da entubação esofágica. Esta diminuição de eficácia através deste último método foi atribuída à não estimulação da goteira esofágica e ao consequente aprisionamento do colostro no retículo-rúmen, sendo por isso um efeito dependente do volume administrado.

Num outro estudo (Besser, Gay & Pritchett, 1991) citado por McGuirk (1998), vitelos que receberam colostro por entubação esofágica, tiveram menores taxas de falha de transferência de imunidade passiva do que vitelos que receberam biberão, pois um volume apropriado pode ser dado em melhor altura a seguir ao parto.

3.3.2.1 - Biberão

A administração através de biberão pode resultar em ingestões adequadas desde que a pessoa que administra, tenha a prática e a paciência necessárias. No entanto, o volume de colostro que se consegue administrar é limitado pois depende da vontade de mamar do vitelo. Num estudo (Besser, Gay & Pritchett, 1991), observou-se que se demoraram 20 minutos em média para administrar 2,5 litros de colostro a vitelos com menos de 1 hora de vida, e que aproximadamente um terço dos bezerros demorou mais de 1 hora para ingerir os 2,5 litros de

colostro. Utilizando este método recomenda-se fornecer uma quantidade de colostro até à satisfação ao nascimento, e novamente às 12 horas de vida, 2 a 3 litros de cada vez. Contudo, este método pode ter altas taxas de falha de transferência de imunidade passiva em explorações em que os trabalhadores não disponham de tempo ou paciência para desempenhar esta tarefa (Besser & Gay, 1999).

3.3.2.2 - Entubação esofágica

Outro método de administração artificial é por entubação esofágica. Este método tem como vantagens a possibilidade de administrar maiores volumes em muito pouco tempo. No entanto, por este método a absorção das imunoglobulinas não é tão eficaz, provavelmente porque o colostro fica algumas horas nos compartimentos estomacais anteriores (retículo-rúmen), pouco desenvolvidos, antes de passar para o intestino onde poderá ser absorvido. Por esta razão devem-se administrar maiores volumes que pelo método do biberão, de cada vez (3 a 4 litros). Se forem usados volumes menores (2 litros), a absorção não vai ser suficiente e o bezerro vai sentir-se satisfeito e sem vontade de mamar por várias horas, resultando numa absorção insuficiente de imunoglobulinas. Este método é útil quando se têm limitações de tempo no maneio dos vitelos (Besser & Gay, 1999).

3.3.2.3 - Balde

Não é um método recomendado para administração de colostro pois está associado à ocorrência de falsos trajectos (Radostitis *et al.*, 2000).

3.4 - Diferenças em vitelos de leite/carne

As vacas de leite normalmente produzem grandes volumes de colostro (5-10 litros), no entanto, frequentemente com baixa concentração em imunoglobulinas (Besser & Gay, 1999). O colostro de vacas leiteiras possui grandes variações na concentração de imunoglobulinas. As vacas de carne geralmente produzem maior concentração de imunoglobulinas em menores volumes de colostro (Radostitis *et al.*, 2000). Vacas de carne adultas com plano nutricional adequado produzem uma massa de imunoglobulinas adequada em 3 litros de colostro. Os vitelos de carne têm maior probabilidade de ingerir um volume adequado pelo método natural sem intervenção devido a esta maior concentração. A absorção da mesma massa de imunoglobulinas é mais eficiente num volume total mais pequeno. Parece haver um efeito benéfico na presença da vaca na capacidade de absorção de imunoglobulinas em vitelos de carne. As vacas de carne, ao contrário das vacas leiteiras, costumam apresentar

comportamentos maternos adequados, encorajam o recém-nascido, lambendo-o e tocando-o (Arthington, 2006).

Em vitelos de carne, mamar o colostro de forma natural parece ser altamente eficiente na transmissão de imunidade passiva, no entanto, em vitelos de leite, até 34% dos vitelos deixados com as mães vão sofrer falha de transferência imunitária passiva (McGuirk, 1998; Besser & Gay, 1999). Em vitelos de carne deve ser preferido o método de alimentação natural, excepto em situações em que se verifiquem os motivos explicados atrás nas desvantagens do método natural. Nestes casos deve-se recorrer à entubação esofágica.

3.5 - Volume e Tempo de alimentação

Estudos anteriores apontam que a quantidade necessária de imunoglobulinas para um vitelo se encontra entre os 80 a 100g para uma transferência imunitária com sucesso. Num estudo mais (Besser & Gay, 1999) recente realizado com gado Holstein no estado de Washington, EUA, concluiu-se que esses valores eram ainda insuficientes para uma transferência imunitária passiva com sucesso, pelo que aconselham valores de 150g no mínimo, nas primeiras 12 horas de vida, idealmente na primeira refeição. Outro artigo recomenda 200-300g antes das 12 horas ou 400g às 24 horas (McGuirk, 1998). Num estudo (Morin, McCoy & Hurley, 1997) citado por Godden (2008) vitelos que receberam 4 litros de colostro de boa qualidade às 0 e 12 horas apresentaram concentrações séricas de IgG superiores (31.1mg/ml) às de vitelos que receberam apenas 2 litros de colostro de boa qualidade às 0 e 12 horas de vida (23.5mg/ml).

As vacas leiteiras raramente produzem uma massa de imunoglobulinas suficiente em 2 litros de colostro, pelo que, vitelos Holstein devem receber no mínimo 4 litros de colostro nas primeiras 12 horas de vida. Este volume pode ser dividido em duas refeições quando são utilizados os métodos do biberão ou da entubação esofágica, apesar de a última permitir a administração de 4 litros logo na primeira refeição. Administrar o colostro em duas refeições parece ter efeitos benéficos, uma vez que a segunda refeição desloca a primeira para as zonas de absorção no intestino mais rapidamente (McGuirk, 1998).

Quanto mais precoce for a administração de colostro após o parto, mais eficiente será a absorção.

Segundo os fisiologistas, o intestino mantém-se permeável até 24-30 horas após o parto, no entanto a absorção útil de imunoglobulinas reduz-se muito antes desse período, sendo o período ideal de alimentação de colostro durante as primeiras 8 horas de vida. Idealmente devem-se fornecer duas administrações de colostro durante essas primeiras 8-12 horas de vida (Besser & Gay, 1999).

Atrasar a primeira refeição até às 6 horas não tem efeito na absorção quando são feitas duas administrações até às 12 horas de vida. Contudo, se a primeira refeição for atrasada até 8 horas depois do nascimento, a eficácia de absorção de imunoglobulinas desce cerca de 50% (McGuirk, 1998).

3.6 - Outros efeitos benéficos do colostro

O colostro não contém apenas imunoglobulinas, contém outros componentes com efeitos antimicrobianos e importantes nutrientes para as primeiras refeições dos vitelos, entre outros. Os componentes com efeitos antimicrobianos são: lactoferrinas, lisozimas, lactoperoxidase e leucócitos. Os oligossacáridos presentes no colostro podem fornecer protecção por competirem com os agentes patogénicos pelos locais de ligação no epitélio intestinal. O colostro também possui factores promotores de crescimento e citoquinas, que estimulam a síntese de ADN e a divisão celular e que podem ter um papel importante no desenvolvimento do sistema imunitário do vitelo (Radostitis *et al.*, 2000; Corke, 2010). Os factores de crescimento contidos no colostro são o factor de transformação do crescimento beta 2 (TGF – b2), hormona do crescimento (GH) e insulina, mas a sua função no colostro ainda não está totalmente compreendida. O factor de crescimento tipo insulina (IGF- I) poderá ser um regulador no desenvolvimento do tracto gastrointestinal dos vitelos estimulando o crescimento da mucosa, a produção de enzimas da bordadura em escova, promovendo a síntese de ADN intestinal, estimulando o aumento do tamanho das vilosidades e aumentando a absorção de glucose (Godden, 2008).

Em estudos (Saif & Smith, 1985; Heckert, Saif, Mengel, *et al.*, 1991) citados por McGuirk (1998) a concentração elevada de anticorpos no intestino pode aumentar a protecção contra infecções virais que afectam o epitélio, mas que geralmente não causam infecção sistémica. Este efeito consegue-se através da adição de suplementos de colostro ou colostro ao leite ou leite de substituição adicionado numa concentração de 1% (v/v), 2 a 3 vezes por dia, começando pouco depois do nascimento e continuando até aos 5-7 dias de idade. Este método mostrou eficácia na protecção de infecções virais, principalmente quando o colostro possuía elevadas concentrações de imunoglobulinas anti-virais. Num estudo (Harp, Woodmansee & Moon, 1989) citado por McGuirk (1998), observou-se que colostro com anticorpos para *Cryptosporidium parvum*, fornecido 6 vezes por dia durante 7 dias não teve efeitos benéficos contra este agente.

A alimentação contínua com colostro comparativamente a alimentação com leite a vitelos com diarreia, aumentou os dias com doença, a gravidade da diarreia, número de dias de

tratamento e com temperatura elevada, mas também resultou numa taxa de mortalidade inferior (McGuirk, 1998).

O colostro é muito nutritivo. O conteúdo total de sólidos é de 23,9% em comparação a 12,9% no leite. Esta diferença é atribuída principalmente a um conteúdo mais elevado em proteínas (imunoglobulinas e caseína) no colostro. O conteúdo em gordura também é mais elevado, sendo de 6,7% no colostro e apenas 3,6 % no leite. A energia resultante da lactose e gordura no leite é essencial para a termogénese e regulação da temperatura corporal no vitelo, essencial uma vez que os vitelos possuem reservas de gordura muito limitadas no organismo e estão dependentes da alimentação para este efeito e evitar hipotermias. Algumas vitaminas e minerais também são encontrados em concentrações superiores no colostro do que no leite como cálcio, magnésio, zinco, manganésio, ferro, cobalto, vitamina A, vitamina E, carotenos, riboflavina, vitamina B12, ácido fólico, colina e selénio (Godden, 2008).

3.7 - Armazenamento e manipulação

Uma boa política de armazenamento de colostro, permite seleccionar colostros de boa qualidade com base no seu peso e densidade, para utilizar em situações de falta de colostro ou de disponibilidade de apenas colostro de má qualidade.

O colostro deve ser recolhido através de métodos o mais higiénicos possíveis para reduzir a contaminação do mesmo. O úbere deve ser limpo e o material de ordenha deve estar limpo e a funcionar correctamente.

Relativamente ao colostro armazenado deve ser registada a data de obtenção, a identificação do animal de que foi recolhido, o volume de colostro total dessa ordenha e se é colostro de primeira ordenha (Besser & Gay, 1999). As vacas dadoras de colostro devem estar livres de *Salmonella spp.*, BVD (Diarreia viral bovina) e mastite. O parasita *Neospora caninum* já foi isolado de amostras de leite e colostro, mas não existe evidência de existir transmissão via leite. (Corke, 2010).

O colostro pode ser conservado 1-2 dias à temperatura ambiente, até 7 dias em refrigeração (4°C) e até 1 ano em congelação (-20°C).

A adição de sorbato de potássio numa concentração final de 0,5% prolonga o período de conservação para 14 dias à temperatura ambiente e 3 meses em refrigeração (McGuirk, 1998) por controlar o desenvolvimento bacteriano, mas não impede a acidificação do colostro e a consequente perda de nutrientes (Corke, 2010). O colostro refrigerado pode atingir concentrações bacterianas inaceitáveis após 2 dias de refrigeração (100,000cfu/ml), o que não sucede ao acrescentar ao colostro o sorbato de potássio a 0,5%. Com este procedimento

consegue-se colostro com níveis bacterianos abaixo deste valor até aos 6 dias de refrigeração (Godden, 2008).

Para reaquecer o colostro antes da administração, deve-se evitar calor excessivo para não coagular as imunoglobulinas e degradá-las. Não se deve utilizar o microondas. O método ideal consiste em banho-maria a 37°C, sem contacto directo entre o colostro e a água de aquecimento.

3.8 - Pasteurização do colostro

A contaminação bacteriana no colostro afecta a capacidade de absorver as imunoglobulinas; as bactérias podem-se ligar a estas no lúmen intestinal ou bloquear directamente o transporte através do epitélio. Este efeito foi demonstrado num estudo (Johnson *et al.*, 2007) citado por Godden (2008) em que um grupo de vitelos foi alimentado com 3,8 litros de colostro pasteurizado e outro grupo foi alimentado com 3,8 litros de colostro não pasteurizado com contagens bacterianas de 813 cfu/ml e 40,738 cfu/ml respectivamente. O grupo que recebeu colostro pasteurizado teve concentrações séricas de imunoglobulinas superiores (22.3mg/ml) às do grupo que recebeu o colostro não pasteurizado (18.1 mg/ml). Além da interferência com a absorção de imunoglobulinas, o colostro não pasteurizado pode servir de meio de transmissão de importantes agentes patogénicos como *Mycoplasma* spp, *Mycobacterium avium* subespécie *paratuberculosis*, coliformes fecais, e *Salmonella* spp. É recomendado que o colostro contenha menos de 100,000 cfu/ml bactérias totais e menos de 10,000 cfu/ml coliformes totais. De uma maneira geral, o colostro fornecido nas explorações leiteiras excede este limites. Para prevenir a contaminação devem-se estabelecer boas práticas de higiene em todos os passos: ordenha, armazenamento e procedimentos de alimentação. Deve-se evitar fornecer colostro de vacas infectadas e misturar colostros não pasteurizados (Godden, 2008).

Os métodos convencionais de pasteurizar leite a 63°C durante 30 minutos ou 72°C durante 15 segundos, tornam o colostro pasteurizado demasiado espesso, o que o torna de difícil administração e desnaturam uma parte importante das imunoglobulinas (Godden, 2008). Num estudo (Godden *et al.*, 2003) citado por Corke (2010), após pasteurização a 63°C durante 30 minutos, observou-se uma redução de 23,6% de IgG em 571 amostras e de 58,5% em 951 amostras. A diferença foi atribuída ao tempo usado para aquecer e arrefecer o colostro.

Para pasteurizar colostro devem ser usadas temperaturas mais baixas por períodos de tempo maiores como 60°C durante 60 minutos. Com este método, as características líquidas do colostro são mantidas diminuindo significativamente as concentrações de agentes patogénicos importantes e outras bactérias (Godden, 2008).

3.9 - Substitutos/ Suplementos de colostro

Existem produtos disponíveis para suplementar ou substituir o colostro. Os suplementos de colostro possuem doses de imunoglobulinas inferiores (menos de 50 g de IgG) que os substitutos de colostro (mínimo de 100 g de IgG) (Godden, 2008).

Existem vários produtos disponíveis, alguns são derivados do soro de queijo, ovo, leite ou colostro (McGuirk, 1998). Existem substitutos fabricados a partir de soro sanguíneo obtido em matadouros, estes têm quantidades muito variáveis de imunoglobulinas dependendo do fabricante (Radostitis *et al.*, 2000). Alguns estudos (Quigley *et al.*, 2001 e 2002) citados por Corke (2010) apontam que os substitutos obtidos a partir de soro bovino permitem uma eficácia de transmissão de imunidade passiva superior em relação aos obtidos de outras fontes como colostro ou soro lácteo, comparável à do colostro materno.

Os suplementos devem ser usados para complementar a administração de colostro e não como substituto total deste. Não existe benefício em fornecer suplementos quando uma quantidade aceitável de colostro de boa qualidade já foi administrada (Godden, 2008). Os suplementos indicam nas instruções de administração, que suprem 25% da quantidade de imunoglobulinas necessárias para elevar a concentração de IgG acima de 1000 mg/dl. Estes produtos devem ser usados como suplementos do colostro, mas alguns produtores usam-nos como substitutos, o que não fornece um nível de imunoglobulinas suficiente no sangue dos vitelos. Alguns estudos (Harman *et al.*, 1991; Hunt *et al.*, 1992; Abel Francisco & Quigley, 1993; Morrin *et al.*, 1997) citados em Radostitis *et al.* (2000) apontam efeitos benéficos na utilização deste suplementos em conjunto com o colostro enquanto que outros não encontram nenhum efeito benéfico acrescido em relação à administração de apenas colostro.

Os substitutos podem evitar por completo a administração de colostro, fornecendo uma dose aceitável de imunoglobulinas e também de nutrientes. No entanto, estes produtos quando comparados com a administração de colostro, não fornecem concentrações tão elevadas de imunoglobulinas séricas. Apesar disto, num estudo (Swan *et al.*, 2007) citado por Godden (2008) a mortalidade e morbidade não foram diferentes entre dois grupos de vitelos em que cada um recebeu ou colostro ou substituto de colostro. Por esta razão estes produtos podem ser úteis quando não existe uma fonte de colostro disponível (Radostitis *et al.*, 2000), em manadas infectadas com doença de Johne ou outras doenças (Godden, 2008). Devem ser analisadas as fontes de imunoglobulinas, qualidade e estudos de campo demonstrando dados da sua eficácia (McGuirk, 1998).

4 – Monitorização

Idealmente deve ser feita uma monitorização periódica para avaliar o sucesso da transferência imunitária passiva nos vitelos. A monitorização pode ser útil para perceber se as rotinas de administração de colostro estão a ser eficazes. Pode ser útil também para avaliar o estado de saúde de vitelos a serem adquiridos.

Esta rotina deve fazer parte de um programa de prevenção e monitorização da saúde da manada. A frequência e número de amostras dependerão do tamanho da manada e do tipo de exploração. Os limites considerados para uma boa transferência imunitária também dependerão do tipo de exploração, em termos de manejo, instalações, pressão microbiana presente, e pode ser determinada pelos registos de doença e por valores sanguíneos de IgG nos vitelos. A monitorização de uma transferência imunitária passiva pode ser feita através de vários métodos que medem o nível de imunoglobulinas presentes no sangue dos vitelos.

Em explorações em que se administra o colostro artificialmente, devem ser mantidos registos de datas e horas de nascimento, horas de alimentação com o colostro, quantidade, modo de administração e tipo de colostro (congelado, fresco, substituto) (Besser & Gay, 1999).

A monitorização a nível individual pode ser feita precocemente, como por exemplo a partir das 8 horas de idade, pois as imunoglobulinas são absorvidas rapidamente após a ingestão (2 horas), indicando se até ao momento houve ou não ingestão e absorção adequada de imunoglobulinas (Radostitis *et al.*, 2000).

A concentração máxima de imunoglobulinas é atingida entre as 24 a 48 horas de vida, sendo este o período ideal de avaliação de transferência passiva (Feitosa *et al.*, 2010).

5 - Métodos laboratoriais para pesquisa de falha de transferência imunitária passiva

Existem vários testes disponíveis para a medição da concentração de imunoglobulinas. Estes testes podem ser semi-quantitativos ou qualitativos. Muitos destes testes são usados para avaliar a transferência passiva de imunidade a recém-nascidos. Apesar de existirem testes mais específicos e sensíveis como a radioimunodifusão, existem outros que permitem a tomada de decisões clínicas sem demora, uma vez que podem ser efectuados em condições de campo e fornecem resultados rapidamente. Estes testes são mais válidos quando efectuados poucos dias após o nascimento (Thrall *et al.*, 2004).

Os testes disponíveis para medir as imunoglobulinas séricas são a imunodifusão radial (RID), imuno ensaio turbidométrico (TIA), ensaio imunosorbente ligado a enzima (ELISA), teste da precipitação por sulfito de sódio, teste da precipitação por sulfato de zinco, actividade da

gama glutamiltransferase (GGT) e teste de coagulação do glutaraldeído no sangue total (Godden, 2008).

A radioimunodifusão é o método “*gold standard*”, produzindo os resultados mais fiáveis; no entanto, o seu custo torna-a um método impraticável como rotina de monitorização. É um método usado principalmente em projectos de investigação. Os métodos mais económicos e que fornecem os resultados necessários são a medição da proteína total no soro sanguíneo, a medição da actividade da gamaglutamiltransferase (GGT) sérica, o método da precipitação com sulfato de zinco, o método da precipitação com sulfito de sódio e kits prontos a usar (métodos ELISA, por exemplo) (Besser & Gay, 1999).

Os métodos utilizados neste estudo foram a medição da proteína total através refractómetro e determinação da concentração de imunoglobulinas através do teste de precipitação com sulfito de sódio.

5.1 - Proteína Total através do refractómetro

As imunoglobulinas absorvidas através do colostro constituem a maior parte da proteína encontrada no sangue de recém-nascidos, pelo que a proteína total está directamente

Figura 2- Refractómetro



relacionada com a concentração de imunoglobulinas. A proteína dos recém-nascidos aumenta aproximadamente 2g /dl após a ingestão de colostro (Thrall *et al.*, 2004).

Muitas doenças que afectam os vitelos desta idade fazem-se acompanhar de desidratação, o que pode elevar o valor real da proteína total. Isto pode resultar na classificação de bezerros com falha de transferência imunitária passiva como bezerros que absorveram quantidades adequadas de imunoglobulinas (Thrall *et al.*, 2004).

O refractómetro faz atravessar luz através de uma amostra de líquido e mede a quantidade de luz que é refractada devido aos componentes contidos no líquido. No sangue, as proteínas sanguíneas do soro vão refractar a luz (Quigley, 1998).

Idealmente, a medição deve ser feita pelo menos 24 horas após o nascimento, para a absorção de imunoglobulinas se dar por completo do intestino para a corrente sanguínea e até aos 3 dias de vida, uma vez que depois desta idade a relação entre proteína do soro e imunoglobulinas pode mudar devido a absorção de proteínas da dieta e migração de imunoglobulinas do sangue para outras localizações no organismo (Quigley, 2000).

O limite considerado como indicador de transferência imunitária passiva com sucesso são valores de proteína total superiores a 5,5g/dl. No entanto, num estudo (Quigley, 2001) níveis de proteína de 5,5 g/dl estavam associados a níveis de IgG de 847 mg/dl, considerados

insuficientes. Para concentrações de 1000 mg/dl de IgG, os níveis de proteína tinham de ser 5,8 g./dl. No mesmo estudo foi apontado que 41% da variação de IgG plasmática está relacionada com o valor de proteína sérica quando medida com o refractômetro.

5.2 - Teste de precipitação com sulfito de sódio

O teste baseia-se na capacidade selectiva de precipitar as imunoglobulinas contidas no soro sanguíneo através de soluções de sulfito de sódio anidro. São usadas soluções a três concentrações diferentes: 14, 16 e 18%. São necessárias soluções de maior concentração para precipitar soros com menor quantidade de imunoglobulinas. Soros com concentrações muito baixas de imunoglobulinas não precipitam a nenhuma das concentrações. O fibrinogénio também precipita com estas concentrações de sulfito de sódio, pelo que se deve utilizar soro e não plasma. A leitura do teste faz-se pela observação da ocorrência ou não de precipitação nas três concentrações de sulfito de sódio. O teste classifica as amostras de soro em três intervalos de concentrações: <500 mg/dl, 500-1000mg/dl e >1500mg/dl (Thrall *et al.*, 2004).

Este teste tem uma precisão de 90% nesta classificação. Concentrações de imunoglobulinas menores que 1000 mg/dl são consideradas insuficientes, sinal de falha de transferência de imunidade passiva. Os intervalos de classificação deste teste não se adequam a este limite, pelo que apenas soros classificados no intervalo de >1500mg/dl devem ser considerados como tendo transferência de imunidade passiva adequada (Thrall *et al.*, 2004). Usando o limite de menos de 500 mg/dl torna o teste mais específico (vitelos que não precipitam têm falha de transferência de imunidade passiva) mas menos sensível para detectar falha de transferência de imunidade passiva (vitelos com falha de transferência de imunidade passiva não vão ser considerados). O limite de menos de 500 mg/dl permite a detecção da percentagem mais elevada de falha de transferência de imunidade passiva (86%). Usando o limite de menos de 1500 mg/dl vai tornar o teste menos específico (vai indicar falha de transferência de imunidade passiva em vitelos com transferência adequada) mas mais sensível para detectar falha de transferência de imunidade passiva (Thrall *et al.*, 2004).

5.3 - Outros testes

5.3.1 - Teste de precipitação do sulfato de zinco

Este teste baseia-se, também, na precipitação das imunoglobulinas do soro sanguíneo quando lhe são adicionadas soluções de sulfato de zinco. Como o teste do sulfito de sódio, soluções mais concentradas são necessárias para precipitar soros com baixa concentração de imunoglobulinas. Considerando valores inferiores a 1000 mg/dl como falha de transferência

de imunidade passiva, com as concentrações de 350 mg/dl ou 400 mg/dl de sulfato de zinco obtém-se a maior percentagem de detecção de falha de transferência de imunidade passiva (83 e 88%, respectivamente). As concentrações mais adequadas dependem se se necessita de uma sensibilidade ou de uma especificidade mais elevada (Thrall *et al.*, 2004).

5.3.2 - Teste de coagulação de glutaraldeído

O glutaraldeído forma complexos insolúveis com as imunoglobulinas sanguíneas, o que resulta na coagulação da mistura. O glutaraldeído também forma complexos com o fibrinogénio, pelo que se deve utilizar soro e não plasma. Usando uma solução com uma concentração de 10%, soros de vitelos com menos de 400 mg/dl não coagulam e soros com mais 600 mg/dl de imunoglobulinas coagulam parcial ou totalmente. Soros entre 400 e 600 mg/dl apresentam resultados que variam entre não coagulação até à coagulação completa. Este teste classifica como resultados normais de transferência passiva soros com concentrações entre 600 a 1000 mg/dl, o que não permite identificar correctamente parte dos bezerros com falha de transferência de imunidade passiva. Isto torna este teste muito específico (vitelos identificados com menos de 400 mg/dl têm falha de transferência de imunidade passiva) mas pouco sensível (muitos animais com falha de transferência de imunidade passiva não vão ser detectados) (Thrall *et al.*, 2004).

5.3.3 - Actividade da gamaglutamiltransferase (GGT) sérica

O colostro de ruminantes possui concentrações elevadas de GGT. Os vitelos que mamam colostro têm actividades de GGT 60 a 160 vezes maiores que os adultos, tendo uma moderada relação com a quantidade de IgG sérica. A meia-vida da GGT no colostro é curta e a GGT sérica baixa significativamente na primeira semana de vida. Para uma concentração sérica de 1000 mg/dl de IgG, correspondem valores de 200 UI/l de GGT no primeiro dia de vida e de 100 UI/l no quarto dia. Valores de 50 UI/l indicam falha na transferência imunitária passiva (Radostitis *et al.*, 2000).

5.3.4 - Testes em laboratórios de referência

Os laboratórios de referência oferecem testes mais sofisticados baseados em reacções antigénio-anticorpo, para a determinação da concentração de imunoglobulinas como a radioimunodifusão radial, a imunolectroforese e imunoquímica. Estes testes são mais dispendiosos, demoram mais tempo a serem lidos (períodos de incubação de 18-24 horas), pelo que devem ser reservados para quando seja necessário um estudo mais detalhado do sistema imunitário ou da exploração (Thrall *et al.*, 2004).

Outros testes estão disponíveis em kits prontos a usar, alguns baseados nos testes anteriores, outros baseados em reacções com anticorpos, como ELISA. Estes testes são semi-quantitativos, têm a vantagem de serem mais rápidos e práticos de utilizar. A especificidade e sensibilidade são variáveis (Thrall *et al.*, 2004).

6 - Causas de alteração dos valores da proteína sérica

A PT (proteína total) é determinada pela quantidade de albumina e imunoglobulinas. No plasma, fibrinogénio aumentado pode causar aumento da PT. Alterações na quantidade de albumina ou imunoglobulinas podem não afectar a PT, pelo que devem ser sempre avaliados os valores de albumina, imunoglobulinas e PT separadamente para interpretar correctamente as alterações.

6.1 - Hipoalbuminémia com hipoglobulinémia

Valores baixos de albumina e globulinas em simultâneo podem resultar de hidratação em excesso (excesso de fluidoterapia ou excesso de ingestão de água) ou de perda proporcional dos dois tipos de proteína, que pode ocorrer com perda de sangue (perda proporcional de todos os elementos sanguíneos, entrada de fluido extracelular para compensar hipovolémia com diluição da proteína presente), enteropatias com perda de proteína, doenças cutâneas exsudativas graves (aumento de permeabilidade vascular local com perda de albumina e globulinas), queimaduras graves (aumento de permeabilidade vascular local com perda de albumina e globulinas, apesar de haver casos com resposta inflamatória associada e aumento de globulinas) e doença efusiva (doenças que resultam na deposição de fluidos ricos em proteína em cavidades corporais) (Thrall *et al.*, 2004).

6.2 - Hipoalbuminémia com globulinas normais a aumentadas

Esta situação pode resultar por falha na produção ou por aumento na perda de albumina.

A produção diminuída de albumina pode acontecer em caso de insuficiência hepática, carências nutricionais (raramente a produção de globulinas é afectada e estas também se encontram diminuídas) e parasitismo gastrointestinal. O aumento de perda de albumina pode ocorrer em doença glomerular: as moléculas de albumina são mais pequenas que as moléculas de globulinas, pelo que a sua perda ocorre com mais facilidade; a carga negativa das moléculas de albumina também ajuda nesta perda selectiva. Doenças que provoquem a perda de albumina e globulinas com uma resposta inflamatória associada, o que causa um aumento das globulinas concomitantemente, resulta em globulinas normais ou aumentadas. Também

podem ocorrer aumentos nas globulinas como mecanismo compensatório da perda de albumina (Thrall *et al.*, 2004).

6.3 - Hipoglobulinémia com albumina normal a aumentada:

Esta situação resulta quase sempre de uma redução da gama e beta globulinas; uma redução apenas das alfa globulinas não costuma resultar em diminuição do nível de globulinas. Uma diminuição das beta e gamaglobulinas sem hipoalbuminémia, pode acontecer nas seguintes situações: falha de transferência de imunidade passiva, absorção ou ingestão de colostro insuficiente pelos recém-nascidos; estes estão dependentes da absorção das imunoglobulinas presentes no colostro para a sua protecção, uma vez que nascem quase sem imunoglobulinas (Thrall *et al.*, 2004).

6.4 - Hiperalbuminémia:

Acontece apenas com desidratação, hiperglobulinémia também pode estar presente (Thrall *et al.*, 2004).

6.5 - Hiperalbuminémia com hiperglobulinémia:

Acontece com desidratação; a perda de água causa um aumento proporcional nas duas fracções de proteína, o hematócrito costuma estar no limite superior da normalidade ou elevado, a não ser que houvesse uma anemia preexistente (Thrall *et al.*, 2004).

6.6 - Hiperglobulinémia

Pode resultar do aumento de um dos tipos de globulinas, que pode ser determinado por electroforese (French, Blue & Stokol).

Alfa globulinas: Resposta de fase aguda, que normalmente resulta num aumento das alfa globulinas, principalmente a alfa 2. São globulinas que aumentam rapidamente no sangue (12 a 24 horas), após uma agressão aos tecidos de qualquer tipo (inflamatória, infecções bacterianas e víricas agudas, necrose, neoplasia ou trauma). O seu aumento resulta do aumento na produção pelo fígado mediado por citocinas (IL-1, IL-6, TNF α). Também podem permanecer elevadas em condições inflamatórias crónicas e síndrome nefrótica (French *et al.*).

Beta globulinas: Estão aumentadas em situações de inflamação (aguda e crónica). Aumentos de beta globulinas muitas vezes são acompanhados por aumentos nas gama globulinas (resposta a antígenos), doença hepática activa e doença cutânea supurativa (ambas associadas com aumento da IgM) ou síndrome nefrótica (French *et al.*).

Gamaglobulinas: Esta situação ocorre quando há uma estimulação antigénica resultando numa gamopatia policlonal. Neoplasias de células produtoras de imunoglobulinas também podem produzir aumentos monoclonais das mesmas.

Gamopatia policlonal: Doenças inflamatórias crónicas (infecciosas, imunomediadas), doença hepática.

Gamopatia monoclonal: Neoplasias de linfócitos B ou plasmócitos, apesar de casos de gamopatia monoclonal sem neoplasia terem sido reportados (French *et al.*).

7 - Falha na transferência imunitária passiva

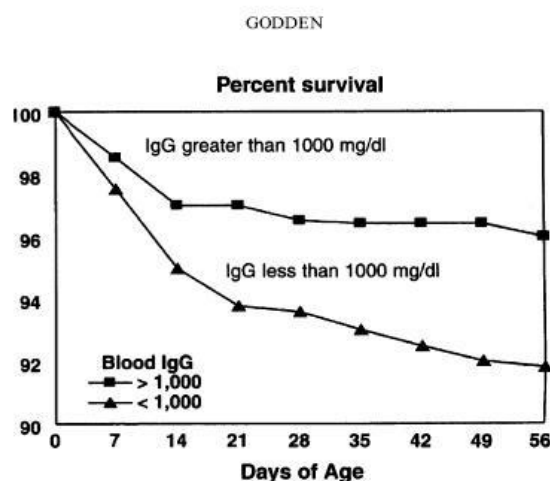
Aceita-se como falha na transferência de imunidade passiva concentrações de imunoglobulinas inferiores a 1000mg/dl no soro dos vitelos entre as 24 a 48 horas de idade. (McGuirk, 1998; Godden, 2008). Aproximadamente 20 a 30% dos neonatos sofrem de falha de transferência imunitária passiva (McGuirk, 1998).

O insucesso na ingestão ou absorção dos elementos presentes no colostro predispõe os vitelos para a ocorrência de doenças no período neonatal, nomeadamente infeções intestinais, respiratórias, septicémias bacterianas e consequentemente maiores índices de mortalidade.

No sangue dos vitelos, uma concentração de 500mg/dl de imunoglobulinas está associada a protecção contra doença septicémica e uma concentração de 1000mg/dl é considerada suficiente para protecção de doenças infecciosas na maior parte dos ambientes (Radostitis *et al.*, 2000).

Gráfico 1 - Sobrevivência de vitelos leiteiros segundo a concentração de IgG

Fonte: Godden, 2008.



Quando a falha de transferência de imunidade passiva se torna um problema de manada a prevalência de infecções intestinais e infecções respiratórias aumenta muito (McGuirk, 1998). Contudo, segundo McGuirk (1998), vitelos com falha de transferência de imunidade passiva são saudáveis e conseguem crescer e produzir normalmente, o que mostra a importância da influência do meio ambiente, práticas de manejo, pressão microbiana, nutrição a que estão sujeitos durante o seu crescimento, e não só da transferência de imunidade passiva.

Os principais factores que resultam em falha de transferência de imunidade passiva são: volume e/ou concentração inadequadas de colostro produzido, quantidade ingerida insuficiente, tempo da ingestão inadequado e absorção sem sucesso (McGuirk, 1998).

O “*stress*” provocado por factores como calor, espaço disponível, idade dos outros animais, ausência da vaca, pode levar à libertação de glucocorticóides que podem levar à impermeabilização precoce do intestino (Meinert & Hurley, 1998).

O “*stress*” pelo frio pode diminuir a absorção de IgG, tanto por interferência nos mecanismos de absorção intestinal como por interferir na capacidade do vitelo se levantar e mamar (Godden, 2008).

Em vacas de carne, a concentração de imunoglobulinas tem tendência a ser mais baixa em vitelos resultantes de partos gemelares, vitelos filhos de vacas magras ou de vacas com doenças no período perinatal. Cada gémeo irá mamar uma quantidade menor de colostro; se o produtor avaliar se os vitelos mamaram pelo enchimento do úbere, pode estar a fazer uma má avaliação em relação a um dos vitelos (Waldner & Rosengren 2009).

O sexo do vitelo também tem influência na absorção de imunoglobulinas, está demonstrado que as fêmeas têm uma taxa de absorção maior que os machos (Meinert & Hurley, 1998).

Parece haver componentes genéticos, tanto na vaca, no processo de passar os anticorpos do sangue para o colostro, como no vitelo, na capacidade de absorção e idade de estabelecimento da imunidade activa, sendo o nível de imunoglobulinas às 24-36 horas e às 4 semanas o melhor indicador de defeitos hereditários (McGuirk, 1998; Meinert & Hurley, 1998).

Num estudo (Beam *et al.*, 2009) realizado nos Estados Unidos estimou-se que a percentagem de prevalência de falha de transferência imunitária era de 19,2% em vitelas de explorações leiteiras. A taxa de incidência era maior em explorações que não mediam as proteínas séricas como monitorização da ocorrência de falha de transferência imunitária passiva (OR=13,8), que administravam colostro após as 4 horas de vida (OR=2,7), que não procuraram assistência veterinária quando não conseguiram corrigir a posição do vitelo para o parto (OR=2,6), em que permitiam a amamentação natural (OR=2,4), que misturavam colostros (“*odds ratio*”: OR=2,2) e quando não era dada uma fonte de calor quando estava frio a vitelos que sofreram distócias (OR=1,6).

8 - Correção da falha na transferência imunitária passiva

A decisão de tratar um vitelo com falha de transferência imunitária passiva deve-se basear em vários factores como a idade do vitelo, o seu valor, o ambiente em que se encontra, e a facilidade em recolher e administrar plasma ou sangue completo (Weaver, Tyler, VanMetre, Hostetler & Barrington, 2000).

Para corrigir os níveis baixos de imunoglobulinas nos vitelos recém-nascidos com mais de 24 horas, quando a absorção intestinal já é impossível, pode-se recorrer a transfusões sanguíneas. (Radostitis *et al.*, 2000). O tratamento de falha imunitária passiva através da administração de plasma heparinizado vai depender do nível de deficiência em imunoglobulinas, do peso do vitelo e da concentração de imunoglobulinas no plasma dador. No caso de existir septicémia as necessidades em imunoglobulinas alteram-se, geralmente aumentando. Geralmente é aconselhada a administração de 200-400mg Ig/kg o que equivale a uma dose de plasma de 20-40 ml/kg para a maior parte dos plasmas endovenosa ou intraperitoneal (mais económica) (Ogilvie, 2005). Também se pode utilizar sangue total (com anticoagulante à base de citrato, ácido cítrico e dextrose) aumentando a dose administrada. Não existe necessidade de fazer “*Cross-matching*” devido à grande variedade de grupos sanguíneos em bovinos. No entanto, deve-se ter o cuidado de vigiar o vitelo para a ocorrência de reacções adversas associadas a transfusões sanguíneas (letargia, dispneia) (Weaver *et al.*, 2000; VMRD, 2004). Quando são feitas transfusões em fêmeas, deve ser considerado o risco posterior de doença hemolítica na sua prole (VMRD, 2004). A doença hemolítica desenvolve-se quando os recém-nascidos ingerem colostro com anticorpos contra o seu grupo sanguíneo. Estes anticorpos também se podem desenvolver em gravidezes prévias e vacinações (The Merck Veterinary Manual, 2010). Também estão disponíveis preparados de imunoglobulinas purificados. No entanto, são necessárias grandes quantidades para obter uma concentração sérica de imunoglobulinas adequada, e a administração pode ser acompanhada de reacções do tipo transfusionais (Radostitis *et al.*, 2000).

Num estudo por Chigerwe e Tyler (2010), foi avaliada a eficácia de um produto à base de soro sanguíneo bovino para corrigir os valores de imunoglobulinas em vitelos com falha de transferência de imunidade passiva. Apesar de ter elevado os valores séricos de imunoglobulinas, 72 horas depois da administração do produto 82,4% dos vitelos continuavam a apresentar falha de transferência imunitária.

Em vitelos com menos de 24 horas de vida deve-se considerar a administração de colostro ou substituto de colostro quando não se dispõe do primeiro. Num estudo (Swan *et al.*, 2007), foi comparada a administração de colostro materno com substituto de colostro à base de plasma

na capacidade de transferir imunidade passiva e impacto posterior em número de vitelos tratados por doença e mortalidade. A primeira dose de substituto tinha 125g de imunoglobulinas e a 2ª dose tinha 45g (fornecida 8 a 12h após a 1ª). A concentração de imunoglobulinas e proteína total foi significativamente maior em animais que receberam colostro materno (IgG = 14.8 ± 7.0 mg/mL; PT = 5.5 ± 0.7 g/dl) do que animais que receberam substituto (IgG = 5.8 ± 3.2 mg/mL; PT = 4.6 ± 0.5 g/dl). A percentagem de animais com falha de transferência imunitária (IgG <10.0 mg/mL) foi de 28% nos animais que receberam colostro e 93,1% nos que receberam substituto. Apesar desta diferença, a percentagem de animais tratados nos dois grupos não foi muito diferente (51,9% e 59,6% respectivamente) assim como a taxa de mortalidade (10% e 12,4%).

O uso de antibióticos pode ser considerado, no entanto, boas práticas de manejo e higiene devem ser a prioridade (Weaver *et al.*, 2000), uma vez que vitelos com falha de transferência imunitária passiva que crescem em ambientes higiênicos e com bom manejo conseguem atingir níveis de performance de crescimento e de incidência de doença semelhantes a animais com imunidade passiva considerada adequada.

9 - Doenças do período neonatal

O período neonatal é o período de maior risco em termos de saúde na vida de um bovino. O estado imunitário do vitelo, isto é, se recebeu uma imunidade passiva adequada, tem grande influência na saúde dos vitelos neste período mas este não é o único factor.

A ocorrência de doença está dependente de vários factores dependentes do meio em que os animais estão inseridos, isto inclui manejo, temperatura, tipo de alojamento, higiene, outros animais presentes, nutrição, pressão microbiana, etc..

As doenças mais comuns e responsáveis pelas maiores taxas de morbilidade e mortalidade em vitelos são as septicémias em vitelos muito novos, as infecções umbilicais, as diarreias em vitelos com menos de 30 dias e as pneumonias em vitelos com mais de 30 dias (McGuirk, 2008).

9.1 - Septicémia

A septicémia é uma afecção sistémica que se caracteriza pela presença de bactérias e as suas toxinas no sangue. As paredes celulares, os lipopolissacáridos, causam respostas fisiológicas deletérias como anorexia, desregulação da termo-regulação, leucopénia, alterações da frequência cardíaca, redução do débito cardíaco e pressão arterial, culminando em colapso e morte (Fecteau *et al.*, 2009).

A septicémia clássica ocorre em animais entre 2 a 6 dias de idade, tem uma evolução rápida e quase sempre fatal. Existe uma forma menos fulminante de septicémia que ocorre em vitelos mais velhos (7-28 dias) em que ocorrem infecções localizadas evidentes como artrite, infecção das placas de crescimento, hipópion, meningite, pneumonia. Esta forma de septicémia pode ser explicada por transferências imunitárias passivas parciais ou exposição a bactérias menos virulentas. Também pode ocorrer septicémia em animais mais velhos (10 a 12 semanas) sem falha de transferência de imunidade passiva associada a estirpes virulentas de *Salmonella* spp. ou *Mannheimia hemolytica*.

A protecção conferida pelo colostro é essencial para a protecção contra a septicémia neonatal. A falha na transferência da imunidade passiva está altamente associada à ocorrência de septicémia em vitelos (Fecteau *et al.*, 2009).

Normalmente a exposição aos agentes patogénicos faz-se a partir de ambientes contaminados. A exposição a bactérias quando a flora intestinal dos vitelos ainda não está completamente estabelecida pode permitir a colonização por bactérias patogénicas. A administração de colostro contaminado com bactérias pode ser a fonte de infecção, uma vez que as bactérias podem ser absorvidas juntamente com os elementos do colostro. A infecção também pode ocorrer através da placenta dentro do útero ou durante o parto. A mucosa oral, nasofaringe e, orofaringe e a via umbilical também podem ser portas de entrada (Fecteau *et al.*, 2009).

As estirpes septicémicas de *Escherichia coli* são as mais frequentemente isoladas de vitelos septicémicos, mas também se encontram *Actinomyces pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus* spp., *Pseudomonas*. A septicémia devido a *E.coli* denomina-se colisepticémia, e está altamente relacionada com uma falha na transferência de imunidade passiva. A IgM é a principal imunoglobulina protectora contra a septicémia e sofre um declínio muito acentuado no sangue dos vitelos pelos 5-7 dias de vida. Este facto pode explicar a ocorrência de septicémia em vitelos que receberam uma imunidade passiva adequada. É possível que estes vitelos sejam expostos aos agentes infecciosos antes de receberem colostro; os agentes podem ficar aprisionados no coágulo sanguíneo no cordão umbilical, e passados os 5-7 dias de protecção pela IgM a infecção a partir do cordão umbilical torna-se possível. Se por volta destes dias de idade se desenvolver outra doença simultaneamente, como por exemplo diarreia, aumenta a probabilidade de ocorrência de septicémia. Os sinais clínicos de septicémia são inespecíficos; inicialmente existe letargia, progredindo para colapso e choque. As frequências cardíacas e respiratórias aumentadas costumam ser um achado constante. Outros sinais mais específicos incluem sinais neurológicos como nistagmus, cegueira e alterações oftalmológicas, como hipópion. A meningite acompanha quase sempre a septicémia em vitelos (Grove-White, Aber, Cefnddwysarn, Bala & Gwynedd 1998) e

normalmente os agentes que as causam são gram-negativos, especialmente a *E. coli*. (Fecteau *et al.*, 2009) Os vitelos podem apresentar extensão do pescoço, hiperestesia, anorexia, letargia e convulsões (Fecteau *et al.*, 2009). A diarreia não é comum mas pode ocorrer assim como o aumento da temperatura corporal. (Grove-White *et al.*, 1998).

O diagnóstico definitivo de septicémia consegue-se com uma cultura sanguínea. Um resultado negativo não implica necessariamente que não exista septicémia pois a presença de bactérias está dependente de vários factores, como terapia com antibióticos, presença de anticorpos opsonizantes, número de bactérias e estadio da doença (Fecteau *et al.*, 2009).

9.2 - Doença umbilical

A doença umbilical é comum em recém-nascidos, particularmente em vitelos. Esta inclui onfalite, onfaloflebite, onfaloarterite e infecção do úraco. A infecção das estruturas umbilicais ocorre no nascimento e é resultado de uma flora bacteriana mista (*E.coli*, *Proteus* spp., *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium pyogenes*). A onfalite consiste na infecção da parte externa do umbigo. Geralmente ocorre em vitelos entre 2 a 5 dias de idade e pode persistir durante várias semanas. O umbigo costuma estar aumentado de volume e pode ter corrimento purulento, palpação dolorosa e provocar toxémia sub-aguda. A onfaloflebite consiste na infecção das veias umbilicais que se pode estender até ao fígado. Podem-se desenvolver abscessos em todo o percurso das veias até ao fígado e no fígado, que podem ser sentidos com palpação profunda. O umbigo costuma estar aumentado de volume e com corrimento purulento. A onfaloflebite atinge vitelos entre 1 a 3 meses de idade que não se desenvolvem devido à toxémia crónica. A onfaloarterite ocorre quando a infecção atinge as artérias umbilicais. Ocorre toxémia crónica. A infecção do úraco pode ocorrer ao longo de todo o seu trajecto desde o umbigo até à bexiga. O umbigo pode ficar aumentado de volume e ter secreção purulenta. Pode ter como consequência a ocorrência de cistite e piúria. A infecção das estruturas umbilicais pode ser ter como consequência a ocorrência de septicémia em vitelos com falha de transferência de imunidade passiva e bacteriémia e disseminação bacteriana para articulações, ossos, olhos, endocárdio e artérias terminais nos membros, orelhas e cauda (Radostitis *et al.*, 2000).

9.3 - Diarreia

A diarreia é uma condição comum em vitelos, com múltiplas causas, nem todas de cariz infeccioso. A diarreia é de uma maneira geral definida como um desequilíbrio intestinal na absorção de água e sódio, resultando na passagem de fezes mais líquidas que o normal. As alterações metabólicas normalmente já estão a ocorrer há algum tempo antes de surgirem as primeiras fezes alteradas. As alterações nas fezes não estão directamente relacionadas com a

gravidade da doença. As principais alterações metabólicas associadas a diarreia são desidratação, hiponatremia, acidose metabólica e hipercalémia. A acidose é resultante da perda de bicarbonato pelas fezes e pela produção de ácido láctico no cólon através de fermentação. Em animais em choque grave, a produção de ácido láctico pelos músculos também desempenha uma parte importante (Grove-White *et al.*, 1998).

Quando ocorrem surtos de diarreia devem ser conduzidas investigações para determinar quais as causas, infecciosas ou não. Estas investigações devem incluir a consulta dos registos de saúde da exploração dos últimos 12 meses em relação a dados como taxas de mortalidade, morbilidade, tratamentos efectuados, idade dos vitelos que foram afectados e origem dos vitelos. A investigação também deve procurar quais as fontes de infecção; para isso deve-se ter em conta o estado imunitário das vacas, o padrão de movimentação dos vitelos, o período de incubação dos possíveis agentes e o comportamento dos vitelos (McGuirk, 2008).

A via fecal-oral da vaca para o vitelo é a via mais comum de transmissão de agentes patogénicos, e pode ocorrer através do colostro ou leite contaminado, camas contaminadas, outros animais no mesmo espaço, animais de estimação, pestes, alimentos, instrumentos de alimentação, alimentadores esofágicos, mãos, botas ou roupas dos tratadores de vitelos (McGuirk, 2008). A fonte mais comum de infecção são as camas. Pode-se fazer uma quantificação de bactérias presentes em amostras de cama, para perceber se é a fonte de infecção (McGuirk, 2008). O tipo de cama ideal para os vitelos vai depender de vários factores como a idade dos vitelos, a temperatura ambiente, o custo, a estação do ano e o manejo. As camas de areia estão associadas a maior prevalência de diarreias. As camas devem ser mantidas secas e devem ser renovadas para prevenir a transmissão de agentes entre vitelos. A ocupação contínua das instalações para vitelos resulta num aumento do número total microorganismos, por manutenção destes no ambiente, aumentando o risco de transmissão. Deve estar disponível um número de camas 10% superior ao número de ocupação por vitelos a cada momento para permitir a limpeza, desinfecção e períodos de vazio das instalações entre grupos de vitelos. Isto permite um melhor controlo da propagação de doenças, não só as entéricas.

O leite pode constituir a fonte de infecção de diarreias. O leite de substituição não constitui a fonte de infecção mais provável desde que o transporte, preparação, equipamentos e distribuição sejam feitos apropriadamente. O leite em natureza não pasteurizado possui um risco elevado de contaminação principalmente se não houver refrigeração imediata do mesmo quando ordenhado. Para determinar o risco de infecção através do leite podem-se retirar amostras do tanque e dos equipamentos de alimentação (McGuirk, 2008).

O período de incubação de agentes patogénicos intestinais de interesse é de 12 horas a 5 dias. As diarreias antes dos 5 dias de idade normalmente são originadas do local de nascimento enquanto diarreias em vitelos com mais de 7 dias serão originárias do alojamento dos vitelos, transporte, ou outro ambiente ou influência a que tenham sido expostos (McGuirk, 2008).

A maioria das infecções entéricas são de natureza mista e os agentes podem mudar ao longo do tempo dependendo da estação do ano e da dinâmica da população no local de exposição. O conhecimento dos agentes envolvidos tem vantagens, tais como definir os locais e modo de exposição, fazer tratamentos direccionados à causa e adoptar medidas de prevenção mais eficazes. Para identificar qual ou quais os agente envolvidos, podem-se recolher amostras fecais de vitelos afectados que ainda não tenham sido sujeitos a tratamento e enviá-las para um laboratório de referência. A idade dos vitelos afectados pelas diarreias serve de indicação do possível agente envolvido. A *Escherichia coli* enterotóxica apenas se pesquisa em vitelos com menos de 5 dias de idade. Em vitelos entre os 5 e os 14 dias de idade os agentes mais comumente envolvidos são: o rotavírus, coronavírus, *Salmonella* spp. e *Cryptosporidium parvum*. Em vitelos com mais de 14 dias ou em vitelos desmamados os agentes mais frequentemente envolvidos são: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Eimeria* spp. e *Giardia* spp. (McGuirk, 2008).

A colonização por flora comensal intestinal a partir do ambiente no intestino dos recém-nascidos é um processo natural, no entanto, quando a contaminação ambiental com coliformes é excessiva, a *E.coli* enterotóxica pode ser ingerida. Esta coloniza o intestino de vitelos com menos de 5 dias, pois o pH do abomaso destes encontra-se entre 6 a 7, o que permite a sobrevivência da bactéria, o acesso ao intestino e a sua colonização. A partir dos 5 dias de idade o pH abomasal desce para valores inferiores a 2 e a colonização torna-se impossível (Foster & Smith, 2009).

Estudos (Xiao & Herd, 1994; Fayer *et al.*, 1998; O'Handley *et al.*, 1999) citados por Foster e Smith (2009) mostram que até 100% dos vitelos podem ser infectados com *C.parvum* e que estes se tornam a maior causa de contaminação ambiental, pois cada um pode libertar até 10^7 oocistos por grama de fezes. Os vitelos tornam-se resistentes ao agente após o episódio inicial de infecção. A gravidade e incidência dos sinais clínicos variam muito entre explorações e dentro das explorações, pelo que existem dúvidas acerca da importância do *C.parvum* como agente primário de infecção. A libertação de oocistos de *C.parvum* pode iniciar-se aos 3 dias de vida, tem o seu pico às 2 semanas e pode continuar nos animais adultos. A diarreia causada por este agente raramente ocorre depois dos 3 meses. Depois da infecção os sinais clínicos atingem o pico aos 3-5 dias e duram cerca de 4-17 dias.

São encontrados anticorpos contra rotavírus em 90% de gado não vacinado e o vírus foi isolado de 94% de vitelos numa exploração leiteira e num viteleiro durante as primeiras 2 semanas de vida. Os vitelos infectam-se por ingestão do vírus, que se mantém estável no ambiente se as temperaturas não baixarem muito. Tipicamente afecta vitelos com menos de 3 semanas com o pico de incidência aos 6 dias de idade. O período de incubação é de aproximadamente 24 horas com resolução da diarreia em casos não complicados em 2 dias. (Foster & Smith, 2009). A imunidade colostral é a melhor maneira de controlar esta infecção; a vacinação das vacas no período seco aumenta o número de anticorpos contra este agente no colostro. Esta imunidade passiva é eficaz a diminuir os sinais clínicos (Foster & Smith, 2009). A infecção por coronavírus afecta os vitelos nas primeiras 3 semanas de vida e o pico da incidência ocorre entre os 7-10 dias. A infecção ocorre por ingestão do vírus no ambiente contaminado. Os sinais clínicos começam 2 dias depois e continuam durante 3-6 dias. Este vírus também está envolvido em diarreias em gado adulto, na disenteria de inverno e doença respiratória em vitelos mais velhos (Foster & Smith, 2009).

Vacas portadoras de *Salmonella dublin* podem transmitir o agente através do colostro aos vitelos, doença que se pode revelar entre as 2 semanas a 3 meses de idade (McGuirk, 2008). As secreções salivares de vitelos infectados por *Salmonella* spp ou outros agentes intestinais podem transmitir a doença, pelo que restos de água e comida que não foram ingeridos na totalidade devem ser removidos (McGuirk, 2008).

Os equipamentos de alimentação como bebedouros, comedouros e tubos esofágicos devem ser higienizados e desinfectados entre grupos de vitelos, como parte de um plano de prevenção da ocorrência de diarreias e outras doenças (McGuirk, 2008).

9.4 - Doença respiratória bovina

A broncopneumonia é responsável por 21,3% a 50,4% das mortes em vitelos. As broncopneumonias têm um grave impacto económico nas explorações, pois afectam negativamente as taxas de crescimento, performance reprodutiva, produção leiteira e longevidade (McGuirk, 2008; Gorden & Plummer, 2010).

A falha de transferência de imunidade passiva é o factor que mais predispõe a doença respiratória bovina em vitelos (Gorden & Plummer, 2010). Num estudo (Wittun & Perino, 1995) citado por Edwards (2010), vitelos que não recebiam colostro adequadamente, tinham 3,1 mais probabilidades de desenvolver doença respiratória bovina no “*feedlot*”.

Muitos dos agentes patogénicos envolvidos na doença respiratória bovina fazem parte da flora normal do tracto respiratório superior. Normalmente a doença respiratória inicia-se com uma infecção viral primária que fragiliza as defesas permitindo uma infecção bacteriana

secundária. A imunidade inata e adquirida são as primeiras linhas de defesa e previnem a adesão e a migração de agentes patogénicos e secretam anticorpos contra estes (Gorden & Plummer, 2010). Normalmente a doença respiratória desenvolve-se em animais imunodeprimidos devido a “*stress*” (transporte, manejo, temperatura, humidade, ventilação, amoníaco, nutrição) e expostos a vírus imunodepressores como o vírus da diarreia bovina (BVD) ou herpesvirus-1 bovino (rinotraqueíte infecciosa bovina – IBR). A evolução da doença do aparelho respiratório superior para o inferior é permitida pela infecção viral primária. A imunossupressão viral debilita o funcionamento da imunidade inata e do aparelho mucociliar permitindo que bactérias comensais migrem e colonizem o tracto respiratório inferior resultando em comprometimento pulmonar, inflamação e doença (Gorden & Plummer, 2010).

Os agentes virais envolvidos na doença respiratória são: IBR, BVD, parainfluenza-3 (PI3), e vírus respiratório sincicial bovino (BRSV). Os agentes bacterianos envolvidos na doença respiratória são *Mannheimia haemolytica*; *Pasteurella multocida*; *Histophilus somni* e *Mycoplasma bovis* (Gorden & Plummer, 2010).

Os sinais de doença respiratória podem ser depressão, magreza, letargia, apetite diminuído, respiração elaborada ou rápida, tosse, corrimento nasal, focinho seco, orelhas caídas e mau aspecto do pêlo (McGuirk, 2008; Edwards, 2010). Nas explorações são os tratadores que identificam animais doentes, com base na sua experiência de trabalho e instinto. Os sinais precoces de doença respiratória são subtis e os vitelos, como presas, escondem os sinais de doença (Edwards, 2010). A capacidade de diagnóstico de broncopneumonias pelos trabalhadores das explorações tem uma sensibilidade de 56% e uma especificidade de 100% (Gorden & Plummer, 2010). O diagnóstico precoce nem sempre é possível, o que tem como consequência o uso prolongado de antibióticos, altas taxas de recorrência de doença, sequelas refractárias a tratamento como abscessos, otites e problemas generalizados na exploração (McGuirk, 2008).

Num estudo (Wittum *et al.*, 1996) citado por Edwards (2010) para determinar a incidência de lesões pulmonares, de 35% de gado tratado para doença respiratória, apenas 72% apresentaram lesões pulmonares no matadouro, e dos animais que não foram tratados para doença respiratória, 68% apresentaram lesões pulmonares no matadouro. Os animais que apresentaram lesões pulmonares atingiram ganhos médios diários inferiores em 0,077 kg.

Os vitelos que chegam às explorações de engorda são de várias proveniências, o que pode significar diferentes origens geográficas, com diferentes riscos infecciosos, diferentes raças, estados nutricionais e imunitários (Edwards, 2010).

A prevenção de doença respiratória ideal começa com bom manejo, vacinação e desmame antes da chegada ao “*feedlot*”. No “*feedlot*” um bom programa de vacinação deve ser continuado. Se os programas de prevenção não começam antes da chegada ao “*feedlot*”, pode ser mais difícil atingir os níveis de imunidade desejados, resultando em taxas de morbidade e mortalidade maiores, e menores performances (Edwards, 2010). A realização de vazio com limpeza e desinfecção entre grupos de vitelos também é importante no controlo de broncopneumonias. A densidade animal, dimensão das instalações, tipo de construção, ventilação, luz, estado e quantidade de cama, transportes efectuados, idade de desmame, rotinas de saúde, e imunidade colostrá são factores muito importantes na gestão de doença respiratória bovina.

Idealmente, os animais identificados como doentes ou suspeitos deveriam ser transferidos para outra área na exploração, onde não ocorra contacto com os animais saudáveis para evitar a transmissão de agentes infecciosos. Na área hospitalar os animais devem ser avaliados para confirmar o diagnóstico com recurso a auscultação pulmonar e determinação da temperatura rectal. Os vitelos afectados com doença respiratória apresentam temperaturas corporais de 40°C ou superiores. Deve existir um protocolo de tratamento na exploração, que é então aplicado. Devem ser registados os tratamentos administrados, os dias de tratamento e níveis de melhoria (Edwards, 2010). A lavagem broncoalveolar e análise citológica do líquido recolhido são bons métodos para identificar vitelos com infecções ou inflamações. Uma diminuição de macrófagos ou elevação de neutrófilos indica inflamação com ou sem cultura positiva bacteriana. Os isolados bacterianos de agentes patogénicos respiratórios podem indicar a presença de *Mycoplasma bovis*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* e *Histophilus somni* (McGuirk, 2008). Devem ser feitos testes de susceptibilidade a antibióticos.

Deve ser administrada uma dieta altamente palatável a animais que estejam na aérea hospitalar (Edwards, 2010).

Para investigar um problema de pneumonia numa exploração devem-se rever dados para determinar taxas de mortalidade e incidência, padrões estacionais, práticas de manejo, tipo de alojamento, número de vitelos na ocupação máxima, nutrição, vacinações, procedimentos e protocolos de tratamento.

Cada exploração deve desenvolver um plano de tratamento adequado aos agentes patogénicos presentes e nível de mão-de-obra disponível e aplicá-lo de uma maneira consistente a todos os animais doentes (Sweiger & Nichols, 2010). A avaliação da resposta ao tratamento é essencial para perceber se este está a ser eficaz dentro do esperado, fornecendo uma taxa de cura, morbidade e mortalidade aceitável. Um índice aceitável de mortalidade encontra-se entre os

6 e 10%. Também pode ser calculado o número total de mortes e doentes, sendo o índice aceitável entre 10 a 15%. A taxa de sucesso do primeiro tratamento deve ser entre 80 a 85% (Edwards, 2010). Alguns animais não respondem aos tratamentos por incapacidade de funcionamento dos seus sistemas imunitários. Continuar o tratamento em animais que já foram tratados adequadamente durante o período de tempo necessário é um gasto desnecessário e acresce “*stress*” nos vitelos (Sweiger & Nichols, 2010). Os animais que não respondem à terapêutica são classificados como doentes crónicos. Estes podem ser mudados para outra zona hospitalar ou, se as condições o permitirem, ir para o pasto para a longa recuperação (Edwards, 2010). O prognóstico para animais que já foram adequadamente tratados uma vez é mau; normalmente uns a dois terços destes animais tornam-se permanentemente afectados ou perdem-se (Sweiger & Nichols, 2010).

Para o tratamento de doença respiratória bovina a escolha dos antibióticos a administrar é importante, pois devem ser escolhidos os que têm espectros de acção para os agentes envolvidos, que têm a sua eficácia demonstrada e deve-se ter em conta o preço do tratamento (Sweiger & Nichols, 2010). Antibióticos de longa acção podem ser benéficos, necessitando de menos administrações, reduzindo a mão-de-obra e “*stress*” nos animais tratados (Sweiger & Nichols, 2010). A maior parte dos antibióticos recomendados para o tratamento de doença respiratória têm uma boa acção anti-microbiana e atingem concentrações sanguíneas terapêuticas em 2 horas (Sweiger & Nichols, 2010).

O factor mais importante no tratamento da doença respiratória não é a escolha do antibiótico mas a identificação precoce dos animais doentes e o cumprimento do plano de tratamento (Sweiger & Nichols, 2010).

A necrópsia é um método muito útil para averiguar a presença ou ausência de lesões pulmonares, e logo, determinar a precisão de identificação de animais doentes, fazer o diagnóstico correctamente e averiguar a eficácia do tratamento. A necrópsia também permite recolher amostras e enviá-las para laboratório para identificar o tipo de patologia e agentes envolvidos (Edwards, 2010).

9.4.1 - Prevenção de doença respiratória

Os primeiros 45 dias após a chegada a um “*feedlot*” são indicados como o período de maior risco de ocorrência de doença respiratória bovina (Edwards, 2010). Nesta altura existem muitos factores novos causadores de “*stress*” como: transporte, mudança alimentar, instalações, mudanças sociais e manipulação por humanos (Edwards, 2010; Sweiger & Nichols, 2010).

A prevenção de doença respiratória bovina passa pelo desenvolvimento de um sistema imunitário capaz através de uma adequada administração de colostro, nutrição, vacinação, biossegurança e ventilação adequada (Gorden & Plummer, 2010).

9.4.1.1 - Desinfecção do Umbigo

A desinfecção do umbigo reduz a incidência de doença em vitelos. Num estudo (Donald Sockett, 2010) citado por Gorden e Plummer (2010) vitelos que receberam desinfecção sofreram uma redução de 50% em taxas de mortalidade. A taxa de animais tratados para doença respiratória foi apenas de 5% em vitelos a que foi desinfectado o umbigo em oposição a 19% em animais a que não foi desinfectado.

Apenas a pulverização dos umbigos não é suficiente, pois a parte interna do umbigo não é desinfectada. O umbigo deve ser desinfectado mergulhando o umbigo num recipiente limpo com desinfectante fresco; assim tanto a porção externa como a interna são desinfectadas (Gorden & Plummer, 2010).

9.4.1.2 - Qualidade do ar

O tipo de alojamento e ventilação associada é um dos factores que influencia a ocorrência de doença respiratória bovina. Os factores de risco para a ocorrência de doença respiratória bovina são o contacto ou partilha de ar com outros animais, os níveis de humidade relativa superiores a 75%, a má qualidade do ar (amónia, pó), as elevadas contagens de bactérias no ar, as densidades animais elevadas, o tipo de cama, a densidade das camas e a lavagem de instalações com os vitelos presentes (Gorden & Plummer, 2010).

Os factores que reduzem a prevalência de doença respiratória são: menor idade dos vitelos, menores contagens bacterianas no ar, painéis sólidos entre vitelos e camas mais profundas (Gorden & Plummer, 2010).

As bactérias no ar ambiente provêm da pele, fezes, camas e tosse e expiração de animais afectados com doença respiratória (Nordlund, 2008).

Num estudo (Wathes *et al.*, 1984) citado por Gorden e Plummer (2010) acerca de bactérias no ar, a maior parte das bactérias encontradas são não patogénicas; mas altas cargas bacterianas, mesmo mortas, provocam uma sobrecarga ao sistema imunitário das vias respiratórias superiores, tornando os animais mais susceptíveis a infecção.

Quanto à relação entre humidade e quantidade de bactérias no ar existem estudos com resultados diferentes. Segundo Nordlund (2008) quando a humidade relativa se torna elevada, o tempo de sobrevivência bacteriana aumenta, aumentando a densidade de bactérias no ar. Noutro estudo (Gorden & Plummer, 2010), não foi encontrada relação entre a concentração de humidade e amónia no ar com a quantidade de bactérias. Neste mesmo estudo, os factores de

risco encontrados para aumentar o número de bactérias no ar foram: altas temperaturas ambientes, uso de painéis sólidos entre vitelos, camas de vitelos profundas que permitiam a conservação de calor pelo vitelo e áreas pequenas por vitelo ($<3\text{m}^2$).

Apesar de haver uma relação entre a existência de painéis sólidos entre vitelos e camas mais profundas com maiores níveis de bactérias no ar, estes diminuem o contacto entre vitelos, evitando a transmissão de agentes patogénicos e evitam que estes percam calor, evitando o “*stress*” por frio, vantagens que se sobrepõem a níveis mais elevados de bactérias no ar. A ventilação dos espaços individuais torna-se mais difícil com painéis sólidos entre vitelos diminuindo a qualidade do ar (Nordlund, 2008; Gorden & Plummer, 2010). Maiores áreas para cada vitelo e menos painéis sólidos entre vitelos estão associados com menores cargas bacterianas no ar. No entanto, os painéis sólidos entre vitelos resultam numa maior redução de doença respiratória do que a ausência destes e uma melhor higiene do ar. Os painéis sólidos exigem, por isso, muito boa ventilação, preferencialmente com sistemas de ventilação forçada (Nordlund, 2008).

O tipo de chão também tem influência, uma vez que chão que não possibilite a drenagem de águas e urinas vai contribuir para o aumento da humidade ambiente e, consequentemente da densidade bacteriana (Nordlund, 2008).

As bactérias no ar são eliminadas por dissecação, morrendo após alguns segundos, por ventilação que remove as bactérias por substituição do ar e por redução da humidade (Nordlund, 2008).

Menores densidades animais resultam em menores taxas de morbilidade devido a menores cargas bacterianas no ar (Gorden & Plummer, 2010).

A necessidade de ventilação aumenta mais que proporcionalmente ao número de animais presentes um aumento de animais para o dobro exige um aumento de 10 vezes na ventilação, pelo que a partir de certas densidades animais a ventilação forçada torna-se essencial, especialmente em pavilhões que estão concebidos para serem ventilados por ventilação natural (Gorden & Plummer, 2010).

9.4.1.3 - Tipos de alojamento

9.4.1.3.1 - Casotas

As casotas individuais, no exterior, são o melhor tipo de alojamento para prevenir doença respiratória bovina (Gorden & Plummer, 2010).

As casotas individuais para vitelos estão associadas a menores taxas de morbilidade e mortalidade. Estas permitem isolamento de outros vitelos, permitem escolha entre diferentes

zonas de temperatura como o fundo da casota, à porta ou na rua (Nordlund, 2008) e boa ventilação.

Apesar destas vantagens, este tipo de alojamento tem a desvantagem de ser mais exigente para os trabalhadores das explorações, devido à exposição às condições meteorológicas (Nordlund, 2008). Os animais também estão expostos às condições meteorológicas que podem ser extremas, afectando o bem-estar, performance e saúde (Edwards, 2010). As casotas devem ser colocadas de modo a minimizarem a exposição às condições meteorológicas, longe de fontes de contaminação, colocadas a 1,25 m de distância entre si e bem sanitizadas entre vitelos diferentes. Idealmente devem ser mudadas de localização entre usos para minimizar a contaminação bacteriana do solo em que estão colocadas. Todas as operações de alimentação e manejo devem ser efectuadas dos animais mais novos para os mais velhos para reduzir a transmissão de agentes infecciosos (Gorden & Plummer, 2010).

9.4.1.3.2 - Alojamento individual em pavilhões

Para diminuir o “*stress*” por frio dos vitelos e para melhorar o conforto dos trabalhadores, os vitelos têm sido alojados em pavilhões. No entanto, muitas vezes há uma densidade excessiva de animais e a ventilação natural não é adequada para renovar o ar nos espaços individuais de cada vitelo (Gorden & Plummer, 2010).

Este tipo de alojamento com ventilação natural consiste num edifício com cortinas em duas paredes frente a frente e uma abertura no tecto. Quando as temperaturas estão baixas, as cortinas são fechadas e a ventilação ocorre pela fenda no tecto, pela formação de correntes de ar quente. Quando as temperaturas estão elevadas as cortinas são abertas, os ventos naturais renovam o ar dentro do pavilhão e o ar quente sai pela fenda superior.

Num estudo (Lago *et al.*, 2006) citado por Nordlund (2008) sobre este tipo de estrutura no Inverno, observou-se que o ar que entrava pelos beirais entrava a velocidades demasiado baixas para renovar o ar dentro do pavilhão. A ventilação através de correntes quentes através da fenda superior do pavilhão também não acontecia devido a pequenas diferenças de temperatura entre o interior e o exterior do pavilhão (1,6 °C). Os sistemas de ventilação com pressão negativa, durante o Inverno, não conseguem fazer uma boa distribuição de ar fresco.

Os sistemas de ventilação forçada permitem uma renovação constante do ar dentro dos pavilhões e podem ser usados como complemento à ventilação com pressão negativa no Inverno ou como sistema de ventilação único. Este tipo de ventilação deve ser imperceptível, sem criar correntes de ar (que são definidas como 0,5m/s) (Nordlund, 2008). Estes sistemas são importantes quando existem painéis sólidos entre vitelos.

O tipo de alojamento recomendado consiste em pavilhões com alojamento individual com dois painéis sólidos laterais e painéis frontal e traseiro o mais abertos possível. Para prevenir o frio deve ser fornecida uma boa cama que mantenha os vitelos quentes e permitindo a realização de uma boa ventilação. A higiene do ar deve-se conseguir com recurso a ventilação forçada (Nordlund, 2008).

Figura 3- Exemplo de pavilhão com ventilação natural e separadores sólidos entre vitelos



Figura 4- Exemplo de alojamento em pavilhão com ventilação natural sem separadores sólidos



9.4.1.3.3 - Alojamento em grupo

O alojamento em grupo, recorre a alimentadores computadorizados, sendo uma resposta às necessidades de respeitar o bem-estar animal. Num estudo recente (Svensson & Liberg, 2006) citado por Gorden & Plummer (2010), aponta que vitelos em grupos de 10 ou menos, apresentam melhores taxas de crescimento e menores taxas de morbilidade associada com doença respiratória bovina. Outro estudo (Willard, Losinger & Heinrichs, 1996) citado por Gorden e Plummer (2010) aponta que grupos de 7 vitelos resultam em melhores níveis de

bem-estar. Mais estudos são necessários para perceber se os aumentos de performance e diminuição de incidência de doença respiratória são consequência de um aumento de bem-estar social ou de menores densidades animais.

9.4.1.4 - Temperatura

As temperaturas de termo neutralidade para um vitelo recém-nascido encontram-se entre 10 a 26°C e para vitelos com um mês de idade entre 0 e 23°C. Durante o Inverno, as temperaturas baixam facilmente para valores mais baixos que os de termoneutralidade para os vitelos. Uma boa cama, com profundidade que permita o vitelo ficar semi-coberto, é essencial para manter os vitelos quentes, permitindo efectuar uma boa ventilação sem a preocupação de baixar demasiado a temperatura (Nordlund, 2008).

9.4.1.5 - Metafilaxia

A metafilaxia consiste na administração de medicação em massa a um grupo de animais para eliminar ou minimizar a incidência esperada de doença (Edwards, 2010). Uma análise (Wileman *et al.*, 2009) citada por Nickel & White (2010) comparando métodos biológicos de controlo de doença com metafilaxia revelou ganhos superiores de 0.11kg em animais que receberam esta última. Foram comparados os efeitos de vacinar contra *Mannheimia haemolytica* e administrar tilmocossina em combinação comparativamente a administrar apenas tilmocossina à chegada. O grupo que recebeu a combinação de vacinação e antibiótico apresentou menores taxas de morbilidade (Edwards, 2010).

Os vitelos de carne, devido aos vários transportes, mudanças de alimentação e sociais e maior probabilidade de exposição a agentes patogénicos estão sujeitos a níveis mais elevados de “stress” o que aumenta a susceptibilidade destes para a ocorrência de doença. Estas mudanças também não permitem um controlo de doença de maneira contínua ao longo da produção dos vitelos (Nickel & White, 2010).

A doença respiratória subclínica é de muito difícil detecção, mas com graves consequências económicas (Edwards, 2010). A metafilaxia permite tratar animais com doença subclínica que não demonstram sinais evidentes de doença e reduzir o nível de doença na exploração (Nickel & White, 2010). Num estudo (Vogel *et al.*, 1998) citado por Nickel & White (2010) foram demonstradas reduções significativas em morbilidade e mortalidade relacionada com doença respiratória bovina e aumentos no ganho médio diário e eficiência alimentar quando é aplicada metafilaxia em relação a animais a quem não é aplicada.

No mesmo estudo (Vogel *et al.*, 1998) citado por Nickel & White (2010), uma melhoria na saúde e performance foi encontrada quando era administrada tilmicosina à chegada à exploração a animais com temperaturas rectais superiores a 40°C. Noutro estudo (Galyean, Gunter & Malcolm-Callis, 1995) citado por Nickel & White (2010) entre animais que recebiam tilmicosina em massa e animais que a recebiam quando as temperaturas rectais fossem superiores a 39,7°C foram atingidos níveis de saúde e performance semelhantes. Estes estudos demonstram que a metafilaxia pode reduzir a incidência de doença, tratando os casos subclínicos.

Apesar de haver investigação acerca da altura mais eficaz para a aplicação da metafilaxia, (antes ou após o transporte), a altura mais comum para esta ser administrada é após o transporte, isto é, à chegada à nova exploração, juntamente com outras operações de manejo. Nesta altura os níveis de “*stress*” e exposição a agentes patogénicos estão no máximo para os vitelos mais sensíveis (Edwards, 2010). Estudos (Frank *et al.*, 2002;) citados por Edwards (2010) demonstram que florfenicol e fosfato de tilmicosina inibem eficazmente a colonização da nasofaringe pela *Mannheimia haemolytica*, pelo que a administração antes do transporte reduz a incidência de doença respiratória.

A metafilaxia pode ser administrada no alimento. O desafio é garantir níveis de ingestão suficientes para se atingirem níveis sanguíneos de antibiótico eficazes. Em animais doentes existe uma diminuição de apetite e ingestão de alimento não garantindo os níveis óptimos de antibiótico (Edwards, 2010).

Em termos económicos, a decisão de aplicar metafilaxia vai depender de vários factores: custo do tratamento a aplicar (em termos de mão-de-obra e custo do antibiótico), incidência esperada de doença respiratória sem metafilaxia, incidência esperada de redução de doença, ganhos de performance esperados, custos resultantes do ganho e preço de venda do gado (Edwards, 2010; Nickel & White, 2010).

Numa análise económica (Van Donkersgoed, 1992) citada por Nickel e White (2010) em que o custo considerado por tratamento foi de 10 dólares americanos e a redução de incidência de doença respiratória esperada com a administração de metafilaxia era de 50%, para ser economicamente viável, a incidência de doença respiratória esperada deveria ser pelo menos 25%.

Em surtos de doença, a metafilaxia deve ser aplicada quando mais de 10% dos animais são tratados durante 2 a 3 dias consecutivos ou 25% ou mais dos vitelos são identificados para tratamento no mesmo dia (Edwards, 2010).

Usada conscientemente em animais de elevado risco, a aplicação de metafilaxia é eficiente e compensa economicamente no controlo de agentes bacterianos associados a surtos de doença respiratória bovina (Edwards, 2010).

10 -O papel da vacinação no controlo de doenças

A vacinação é muito importante no controlo da doença respiratória bovina e de diarreias.

A vacinação das vacas no período seco é a melhor maneira de prevenir e controlar várias doenças do período neonatal em vitelos. Como a maior parte das diarreias ocorre nas primeiras 3 semanas de vida, a imunidade colostrar pode ser o único meio de prevenir e controlar a ocorrência e gravidade de diarreias infecciosas neste período precoce da vida do vitelo. (McGuirk, 2008). Esta prática aumenta os níveis de anticorpos que vão estar presentes no colostro. Contudo, exige uma boa política de administração de colostro, uma vez que é através da ingestão e absorção das imunoglobulinas neste contidas que os vitelos vão receber a imunidade passiva. Os agentes infecciosos para os quais a imunidade passiva pode ser passada da vaca para o vitelo através do colostro incluem *Mannheimia haemolytica*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, rotavírus e coronavírus, *Clostridium perfringens* tipo C e D entre outros. Quando a imunidade colostrar é boa, a primeira vacinação de vírus vivo modificado pode ser dada apenas aos 3-4 meses de idade (McGuirk, 2008).

No parto são libertados corticosteróides, que, juntamente com o número elevado de células T, resultam numa depressão do sistema imunitário dos vitelos durante a primeira semana de vida (Cortese, 2009). A vacinação sistémica neste período deve ser evitada por resposta diminuída pelo organismo dos vitelos (Cortese, 2009). O vitelo recém-nascido possui um sistema imunitário capaz de responder a antígenos, desde que não tenha anticorpos maternos em circulação (Gorden & Plumer, 2010). Se existirem altas incidências de falha de transferência de imunidade passiva a vacinação precoce no primeiro mês de vida é aconselhável (Gorden & Plumer, 2010). Um estudo (Eliis *et al.*, 2007) citado por Cortese (2009) mostrou que primovacinação sistémica para doenças virais (BVD, IBRV, BRSV e PI3) entre as 3 e 5 semanas de vida tem pouco impacto. Outros estudos (Murakami *et al.*, 1985; Cortese *et al.*, 1998; Cortese, 1998) citados por Cortese (2009) acerca de vacinação antes das 3 semanas encontraram bons resultados.

A eficácia da vacinação está dependente de vários factores, tais como o tipo de vacina (viva ou inactivada), tipo de antígeno, estado imunitário e idade do vitelo, presença de anticorpos maternos, existência de factores de “stress” na altura da vacinação e altura de exposição a antígenos (Edwards, 2010). Alguns cuidados devem ser tomados na vacinação. Não devem

ser administradas vacinas contra gram-negativas não direccionadas para vitelos, não se deve vacinar em períodos de “*stress*” ou susceptibilidade a doença e é necessária precaução quando se administram doses múltiplas de vacinas ou doses frequentes (McGuirk, 2008).

Para desenvolver um plano de vacinação é necessário perceber quais são os potenciais agentes infecciosos e falhas de imunidade que ameaçam a saúde dos vitelos, tais como falha de transferência de imunidade passiva.

Para ultrapassar o problema dos anticorpos maternos, podem-se administrar vacinas directamente nas mucosas, por exemplo as vacinas intranasais. Estas vacinas estimulam a imunidade local, estimulando principalmente a produção de IgA, protegendo o local de entrada de agentes infecciosos. Estes anticorpos bloqueiam os antígenos nas mucosas, prevenindo a sua entrada e infecção em vez de reduzir a gravidade da doença como é esperado pela vacinação sistémica. As vacinas intranasais também induzem a libertação de interferão nas mucosas, o que promove um ambiente antiviral não específico e pode estimular a maturação do sistema imunitário (Gorden & Plummer, 2010). Existem vacinas para mucosas para IBR, PI3 e BVD tipo 1 e 2, e BRSV (via intranasal) em várias combinações disponíveis e para rotavírus e coronavírus (via oral) (Cortese, 2009). Em vitelos que foram imunizados oralmente, a propagação viral pelas fezes é rara (McGuirk, 2008). A vacinação para BRSV sistémica com vacina viva modificada origina pouca replicação nos vitelos, pelo que a vacinação intranasal é mais eficaz para conferir protecção (Cortese, 2009).

Estão disponíveis várias vacinas vivas modificadas ou mortas para administração sistémica. As vacinas vivas modificadas possuem várias vantagens tais como provocarem uma resposta intensa de longa duração pelo sistema imunitário, menor número de doses necessárias, menor dependência de adjuvantes, estimulação da libertação de interferão e de imunidade mediada por células, são relativamente económicas e o facto dos antígenos vacinais serem similares ao agente infeccioso (Edwards, 2010). Existe consenso de que o uso de vacina vivas modificadas durante os primeiros meses de vida estimula o desenvolvimento de imunidade mediada por células, apesar de existirem poucas evidências científicas que suportem isto. Neste tipo de vacinação os vitelos são vacinados várias vezes durante os primeiros meses de vida, por vezes com intervalos de 1 semana (Gorden & Plummer, 2010).

As vacinas mortas possuem outras vantagens tais como uma maior estabilidade de armazenamento, período de validade mais prolongado, menor probabilidade de virulência residual ou de reversão de virulência e pouca probabilidade de conter microorganismos contaminantes (Edwards, 2010).

As vacinas mais comuns para controlo de doença respiratória incluem antígeno de BHV-1 (IBR), BVD, PI3 e BRSV. As vacinas para controlo de agentes bacterianos envolvidos na

doença respiratória contêm antígeno de *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* e *Histophilus somni*. Alguns estudos (Jim, Guichon & Shaw 1988; MacGregor *et al.*, 2003) citados por Edwards (2010) demonstram que a vacinação contra *Mannheimia haemolytica*, com toxóide-bacterina à chegada dos vitelos à exploração, resulta em menor mortalidade, morbidade e taxa de recaída.

Para o controlo de diarreias neonatais existem vacinas para administração ao nascimento, mas são limitadas. Existem vários protocolos para aumentar a imunidade dos vitelos com imunidade passiva inadequada, mas estes têm falta de fundamento científico quanto à segurança, eficácia e protecção fornecida (McGuirk, 2008).

Tanto a imunização activa como passiva contra o *C. parvum* não são totalmente eficazes na prevenção da infecção, diarreia e propagação de oocistos. A vacinação de vacas no período seco com organismos inteiros ou proteína recombinante diminuiu a propagação de oocistos e a gravidade dos sinais clínicos mas esta prática ainda não foi validada sob condições de campo (Foster & Smith, 2009).

A imunidade colostrar é a melhor maneira de controlar a infecção por rotavírus e coronavírus; a vacinação das vacas no período seco aumenta o número de anticorpos contra este agente no colostro. Esta imunidade passiva é eficaz a diminuir os sinais clínicos. A vacinação oral não parece ter tanto sucesso e não é recomendada (Foster & Smith, 2009).

Quando os animais são sujeitos a transporte, e este dura mais de 12 horas, pode ser benéfico providenciar um descanso de 1 hora por cada hora de transporte antes de efectuar a vacinação. Num estudo (Richeson *et al.*, 2008) citado por Edwards (2010) foram comparados os ganhos médios diários de dois grupos de animais em que um foi vacinado à chegada e o outro 14 dias depois, ambos com uma vacina viva modificada polivalente. O grupo vacinado 14 dias depois da chegada mostrou melhores resultados em termos de ganhos médios diários entre o dia 0 e 14 e dia 0 a 42.

A imunidade demora 2 a 3 semanas a desenvolver-se e pode necessitar de várias doses vacinais. De uma maneira geral, a vacinação de vitelos deve preceder a exposição a agentes patogénicos em pelo menos 10 dias, para permitir que o sistema imunitário responda em pleno à vacinação. No caso de ser necessária revacinação, esta deve ser dada 10 dias antes da exposição aos agentes patogénicos (Cortese, 2009).

Além da vacinação inicial, vitelos “naive” ou de alto risco devem ser revacinados 7 a 21 dias após a primeira vacinação. Estes animais podem estar a sofrer altos níveis de “stress” possuindo sistemas imunitários comprometidos, o que tem como consequência que uma vacinação apenas possa não solicitar resposta imunitária suficiente. O tempo entre vacinações vai permitir a recuperação do “stress”, corrigir desequilíbrios nutricionais, restabelecer o

sistema imunitário e permitindo uma melhor resposta imunitária à segunda vacinação. Esta revacinação tem dois efeitos, serve de reforço a vitelos que já responderam à 1ª vacinação e permite nova exposição ao antigénio aos vitelos que não responderam inicialmente. A prática de revacinação é controversa e alvo de estudos que apresentam resultados variáveis em termos de morbilidade, mortalidade e performances (Edwards, 2010). Extrapolando de investigação feita noutras espécies, demasiadas vacinações podem conduzir a tolerância imunológica ou auto imunidade. É necessária mais investigação para explorar esta questão (Gorden & Plummer, 2010).

A prioridade no controlo de doença deve ser o aumento da resistência e imunidade dos vitelos e diminuir a exposição e susceptibilidade a doença e não a vacinação (McGuirk, 2008).

11 - Alimentação

As performances de crescimento e a saúde nos vitelos estão intimamente relacionados.

A alimentação de vitelos é constituída por três partes: leite, água e alimento sólido.

O vitelo nasce como um pré-ruminante e sofre um período de transição até se tornar ruminante (Drackley, 2008). Durante as primeiras 2-3 semanas de vida o vitelo é não ruminante, dependendo inteiramente do leite para se alimentar, ingerindo quantidades mínimas de alimentos sólidos. Durante a fase pré-ruminante o vitelo possui enzimas que são altamente eficientes na digestão de proteínas do leite, lactose e triacilgliceróis, mas menos eficientes para proteínas não lácteas ou polissacáridos como amido. Estes factores devem ser considerados na escolha do tipo e quantidades de alimentos a fornecer nesta fase, para não comprometer a saúde ou o crescimento dos vitelos (Drackley, 2008). A alimentação antes do desmame é a fase mais dispendiosa na produção de vitelos (Drackley, 2008). Assim que os alimentos sólidos constituem uma parte importante da alimentação, o vitelo passa para a fase de transição que dura até ao desmame. Durante esta fase a fermentação dos alimentos sólidos promove o desenvolvimento e expansão do retículo-rúmen e diferenciação do epitélio ruminal, o que permite a absorção dos ácidos gordos voláteis provenientes da dieta. Após o desmame, o animal entra na fase de ruminante que dura o resto da vida (Drackley, 2008).

Os vitelos têm necessidades de manutenção e de crescimento. Dentro das primeiras estão incluídas as necessidades para manutenção da temperatura corporal, respostas do sistema imunitário e respostas ao “*stress*” como transporte ou ambientes desconfortáveis (Drackley, 2008). As necessidades de energia metabolizável (EM) são determinadas pela subtracção das perdas de energia nas fezes, urina, gases digestivos (negligenciável) da ingestão total de energia. Em condições de termoneutralidade as necessidades em ME são de aproximadamente

1,75 Mcal/dia para um vitelo de 45kg. O leite em natureza contém cerca de 5,37 Mcal ME/kg de sólidos, o que se traduz numa necessidade de 2,6 kg de leite (2,5litros) apenas para manutenção. A maior parte dos substitutos de leite contém menos gordura que o leite de vaca em natureza, possuindo menos ME (4,6-4,7 Mcal/kg), resultando numa necessidade de 3 litros de substituto apenas para manutenção. Todo o alimento extra vai servir para crescimento (Drackley, 2008).

As necessidades em proteína não variam com as variações de temperatura, sendo mais baixas que as necessidades de energia (cerca de 30g/dia para um vitelo de 45kg). As necessidades em proteína são determinadas pela taxa de crescimento; existe uma relação quase linear entre a ingestão de proteína e a taxa de crescimento. Este efeito não está relacionado com a ingestão de energia, desde que esta seja suficiente para a deposição da proteína ingerida (Drackley, 2008). O leite de vaca contém cerca de 26% de proteína no resíduo seco. A quantidade de energia e proteína na dieta devem ser conjugadas consoante a taxa de crescimento esperada dos vitelos. Por exemplo, um substituto com 20% de proteína não fornece proteína suficiente para crescimento e a energia extra é convertida em gordura. Um substituto com 28% de proteína para crescimento acelerado fornece proteína em excesso que não consegue ser usada para crescimento por falta de energia; o excesso de produtos azotados são degradados e excretados na urina.

O estado nutricional dos vitelos que chegam às explorações de engorda costuma ser desconhecido. Sabe-se que vitelos sujeitos a transporte e consequentemente a privação de água e comida sofrem uma redução significativa na capacidade e fermentação ruminal que pode permanecer por vários dias após a chegada. Os desequilíbrios hídricos e nutricionais podem levar várias semanas a serem corrigidos. À chegada, os vitelos podem não estar habituados aos novos alimentadores, pelo que uma dieta altamente palatável e completa deve ser oferecida juntamente com feno para os atrair (Edwards, 2010).

Existem várias estratégias de alimentação de vitelos, desde a restrição de alimento líquido até ao fornecimento de alimento próximo do nível de ingestão natural. Esta última também denominada como crescimento acelerado, permite maiores taxas de crescimento mas também causa ligeiros atrasos no início da ingestão de alimentos sólidos (Drackley, 2008). A estratégia de alimentação deve ser adaptada a cada exploração e tipo de animais presentes (Drackley, 2008).

Geralmente os vitelos são alimentados com 8-10% do seu peso corporal em substituto de leite, juntamente com “*starter*” *ad libitum*. Esta quantidade de alimento líquido é muito menor que o consumo voluntário, que é por volta de 16 a 20 % do peso corporal. Esta estratégia de alimentação, tenta estimular a ingestão precoce de alimentos sólidos pela restrição de

alimento líquido, tendo como objectivo a redução dos custos totais de alimentação nesta fase. Esta quantidade de leite apenas fornece a energia necessária para manutenção e um aumento de peso 200/300 g/dia em condições de termoneutralidade. Assim que os vitelos iniciam o consumo de “*starter*”, estes crescem rapidamente (Drackley, 2008).

Uma outra estratégia de alimentação consiste em fornecer quantidades de alimento líquido muito maiores, próximas da quantidade que receberiam *ad libitum*. Esta estratégia é denominada de crescimento acelerado. A ingestão de “*starter*” neste sistema começa um pouco mais tarde em relação à estratégia anterior, mas aumenta ao mesmo ritmo assim que os vitelos são desmamados. Os vitelos devem ser desmamados quando consumirem um mínimo de 1 kg de “*starter*” por dia, para evitar atrasos de crescimento na altura do desmame (Drackley, 2008). Esta estratégia de alimentação, apesar de se tornar mais dispendiosa, tem vantagens, tais como maiores taxas de crescimento, maior resistência a infecções, alcance da idade reprodutiva mais cedo e aumento futuro da produção leiteira (Drackley, 2008).

O leite de vaca é considerado completo e equilibrado para a alimentação de vitelos em vitaminas e minerais excepto em ferro, selénio e manganésio. Os substitutos de leite são suplementados com vitaminas e minerais para suprir as necessidades, pelo que deficiências ou desequilíbrios são raros (Drackley, 2008).

O leite de substituição tem várias vantagens e é o mais utilizado para a alimentação de vitelos. Este é mais fácil de transportar e armazenar, permite o controlo de doenças transmitidas pelo leite e a consistência é constante. Quando existe fraca performance de crescimento em vitelos alimentados com leites de substituição, esta pode ser devida à utilização de substitutos de má qualidade ou desapropriados, fornecimento de quantidades insuficientes, doenças subjacentes ou problemas sanitários na exploração (Drackley, 2008).

A principal fonte de proteína animal dos leites de substituição é a proteína do soro lácteo. Os vitelos possuem uma elevada digestibilidade para estas proteínas. Em estudos comparativos (Terosky, Heinrichs & Wilson 1997; Lammers, Heinrichs & Aydin, 1998) citados por Drackley (2008) entre leites de substituição com proteína de leite desnatado ou proteínas do soro, a performance de crescimento e saúde foi semelhante. A proteína com origem no leite é mais cara que as alternativas disponíveis, sendo mais comumente usadas as proteínas de soja e de trigo. As proteínas de soja possuem níveis ligeiramente baixos de lisina, metionina e treonina, mas o perfil de aminoácidos é relativamente bem equilibrado em relação às necessidades dos vitelos. A farinha de soja contém alguns elementos anti-nutricionais, como oligossacáridos, proteínas antigénicas, inibidor de tripsina, entre outros (Drackley, 2008). Os concentrados de proteína de soja são produzidos através da extracção com etanol quente dos hidratos de carbono não digeríveis, o que também inactiva as proteínas antigénicas, como a

glicina e a b-conglicinina, (Drackley, 2008). Os concentrados de proteína de soja nos leites de substituição evitam muitos transtornos intestinais mas resultam em menores performances que os que possuem proteínas do soro lácteo. O uso de leites de substituição com proteína de soja associado a um manejo razoável não causa problemas digestivos mas as performances de crescimento são sempre mais baixas do que com proteína de soro lácteo. O uso destes leites que originam menores performances pode ser aceitável quando a ingestão de “*starter*” se inicia precocemente, haja bom manejo e “*starter*” de qualidade (Drackley, 2008). As causas da menor performance e alterações na função intestinal quando os animais são alimentados com leite à base de proteína de soja não são bem compreendidas, uma vez que a maior parte dos factores anti-nutricionais e antigénicos são destruídos por aquecimento. A celulose e a hemicelulose presentes nos produtos à base de soja provocam abrasão nos vilos intestinais e descamação celular, e aumentam a perda de muco na zona terminal do intestino delgado. Outros efeitos observados em vitelos alimentados com soja foram a diminuição da capacidade de sintetizar proteína, da actividade enzimática das mucosas, da capacidade de absorção, aumentos na secreção de mucina, activação imunitária e perda proteica endógena (Drackley, 2008).

O glúten de trigo também pode ser usado como fonte de proteína. A proteína modificada de glúten de trigo tem boas características físicas, não possui factores anti-nutricionais e possui elevada digestibilidade (15-30% menor que para proteínas de soro lácteo, principalmente nas primeiras 2 semanas de vida). Esta fonte de proteína é deficiente em lisina e treonina mas contém valores relativamente elevados de valina, isoleucina e leucina (Drackley, 2008).

Outras fontes de proteína têm vindo a ser investigadas como ovo, batata, peixe, proteína de levedura, “*single cell protein*”, mas todas têm algumas desvantagens e limitações (Drackley, 2008).

A lactose é a principal fonte de hidratos de carbono para os vitelos que possuem elevada capacidade de digestão e absorção desta. O leite contém cerca de 39% de lactose no extracto seco. A capacidade de digestão de amido pelos vitelos é tardia. Pequenas quantidades de amido hidrolizado ou pré-gelatinizado podem ser toleradas por vitelos com menos de 3 semanas. A maltose também pode ser utilizada em pequenas quantidades. A dextrose e a galactose também são bem utilizadas pelos vitelos (Drackley, 2008). Os vitelos não possuem sacarase pelo que não conseguem digerir sacarose. A ingestão deste açúcar provoca diarreia osmótica (Drackley, 2008).

O componente que fornece a maior parte da energia ao leite é a gordura; quanto maior for a sua percentagem maiores serão os ganhos diários, mas pode diminuir a ingestão de “*starter*”.

Em condições de termoneutralidade, dietas com baixo teor em gordura promovem o crescimento com deposição de tecido magro e a ingestão de “*starter*” (Drackley, 2008).

A gordura de leite é muito cara, pelo que são usados substitutos como óleo de coco ou óleo de palma. O óleo de coco, como gordura única, provoca fígado gordo em vitelos, pelo que deve ser usado em conjunto com outras gorduras numa proporção de 1:1 (Drackley, 2008). As gorduras devem ser bem dissolvidas e emulsionadas, pois caso contrário causam problemas digestivos aos vitelos e menores performances (Drackley, 2008).

O fornecimento de água é de extrema importância, e é o factor que mais frequentemente falha nas explorações. Os vitelos devem ter acesso a água para além da fornecida pelos alimentos líquidos. O início da ingestão de alimentos sólidos está muito dependente da ingestão de água. Os vitelos que têm diarreia aumentam o consumo voluntário de água se esta estiver disponível. A separação entre os recipientes para alimentos e água deve ser o suficiente para evitar derrames de água para os alimentos e vice-versa (Drackley, 2008).

A zona de termoneutralidade para vitelos com menos de 21 dias de idade encontra-se entre os 15 e os 25 °C. Fora deste intervalo o vitelo tem de gastar energia extra para manter a temperatura corporal. Os vitelos com mais de 21 dias de idade possuem mais gordura corporal e cobertura pilosa, pelo que suportam temperaturas mais baixas (Drackley, 2008). Em climas frios, a ingestão de nutrientes deve ser aumentada, ou aumentando a quantidade de leite fornecido ou mudando para uma dieta mais rica em gordura (20%) para compensar o dispêndio de energia para manter a temperatura corporal, e manter as mesmas taxas de crescimento (Drackley, 2008). Com temperaturas mais elevadas os vitelos também gastam mais energia para se arrefecerem. Num estudo (National Research Council, 2001) citado por Drackley (2008) em vitelos mais velhos sugerem um aumento de 20 a 30% de energia gasta para este efeito. Em condições de temperaturas elevadas, a total disponibilidade de água e sombra é essencial. Camas de areia também dispersam melhor o calor que camas de palha ou aparas de madeira.

Segundo um estudo (Arieli *et al.*, 1995) citado por Drackley (2008) também é necessária energia adicional para vitelos que vão ser transportados. É sugerido um acréscimo de 100 g de leite em pó para vitelos entre 43 e 50kg, durante 14 dias antes do transporte.

O consumo de nutrientes aumenta dramaticamente quando o organismo responde a um desafio infeccioso. A gluconeogénese aumenta 150% a 200% em infecções moderadas. Em humanos com septicémia, a taxa metabólica basal aumenta 25 a 55%. A septicémia em ratos de laboratório resulta em perdas de 40% da proteína total corporal e numa redução da síntese proteica. Se a nutrição não for adequada, o crescimento e funcionamento do sistema imunitário do vitelo vão ser negativamente afectados perante um desafio infeccioso (Gorden

& Plummer, 2010). O ideal é fornecer uma dieta altamente palatável, pois os vitelos têm o apetite diminuído em mais de 50% quando têm febre e doença respiratória. Um vitelo doente ingere apenas 1,2% do seu peso corporal em matéria seca em oposição a 2,5% num vitelo saudável. O alimento fornecido deve ser mais rico em nutrientes, nomeadamente em proteína e energia e deve conter níveis maiores de vitaminas e minerais, incluindo zinco e cobre (Edwards, 2010).

11.1 - Aditivos Alimentares

A indústria de rações tem pesquisado e tentado encontrar aditivos para as rações que melhorem a saúde e taxas de crescimento dos vitelos (Drackley, 2008). Os aditivos são de natureza variada como por exemplo: imunoglobulinas, culturas bactérias vivas, manano-oligossacaridos, coccidiostáticos, antibióticos, moduladores imunitários, carvão e aminoácidos, entre outros. Este tipo de produtos pode ser vantajoso, uma vez que limita ou evita o uso de antibióticos para controlar problemas digestivos, promovendo uma melhor saúde e resistência intestinal (Drackley, 2008).

O intestino normal contém uma flora bacteriana em equilíbrio que contribui para o funcionamento normal deste e impede a colonização ou sobre crescimento de bactérias com acção patogénica. Em situações de “*stress*” o crescimento normal destas bactérias pode ser alterado (Quigley, 2003).

Os probióticos são produtos que contêm culturas vivas de bactérias, que aumentam a colonização do intestino com bactérias que exercem efeitos benéficos competindo com bactérias patogénicas para lugares de ligação e nutrientes (Drackley, 2008). Como são bactérias vivas, o manuseamento e armazenamento destes produtos deve obedecer a alguns cuidados (Drackley, 2008). Por si só os probióticos não previnem problemas digestivos; outros factores como a pressão microbiana, práticas de manejo e os níveis de “*stress*” vão influenciar a ocorrência ou não de efeitos benéficos como o uso destes produtos (Quigley, 2003).

Num estudo (Abe, Ishibashi & Shimamura, 1995) citado por Drackley (2008) foi observado que probióticos com combinação de culturas de *Bifidobacterium pseudolongum* e *Lactobacillus acidophilus* na dieta de vitelos antes do desmame, aumentou o ganho médio diário e diminuiu a incidência de diarreia. Vitelos suplementados com probióticos apresentam resultados de saúde e crescimento semelhantes aos suplementados com antibióticos (Drackley, 2008). Existem vários estudos que analisam a eficácia destes produtos na manutenção da saúde dos vitelos com resultados diferentes. Nuns são encontradas melhorias

na saúde com a adição de probióticos, noutros não foram encontradas diferenças (Quigley, 2003).

Os prebióticos são hidratos de carbono não digeríveis pelo vitelo mas utilizados pelos microorganismos intestinais. Servem de substrato de crescimento para bactérias benéficas no intestino, favorecendo a sua colonização em detrimento de bactérias patogénicas. Exemplos destes são hidratos de carbono complexos como mananoligossacáridos (MOS), fructoligosacáridos (FOS), galactoligosacáridos e glucoligosacáridos.

Num estudo (Heinrichs, Jones & Heinrichs 2003) citado por Drackley (2008) vitelos que receberam mananoligossacáridos na dieta demonstraram melhores índices de saúde e maiores níveis de ingestão de “*starter*” que vitelos a receber substituto com e sem antibióticos. Num estudo (Donovan, Franklin & Chase 2002) citado por Drackley (2008), um produto que continha dois prebióticos, frutoligosacáridos e alho, suplementados no substituto de leite, originou performances de crescimento semelhantes a leite de substituição medicado. Compostos como a alicina, que é um componente encontrado no alho, têm propriedades antimicrobianas; no entanto num estudo clínico (Olson *et al.*, 1998) citado por Drackley (2008) a alicina mostrou pouco efeito na infecção por *Cryptosporidium p.*.

Outros produtos que podem ser usados são óleos essenciais e outros produtos botânicos. Vitelos suplementados com estes produtos mostraram melhores resultados, maiores taxas de crescimento que vitelos não suplementados (Drackley, 2008).

Num estudo realizado no oeste canadiano por Waldner e Rosengren (2009), para avaliação da transferência imunitária passiva e sua relação com a saúde em vitelos de carne durante os primeiros 3 meses de vida, verificou-se que a administração de rotina de selénio e vitamina E diminuía significativamente as probabilidades da necessidade de tratamento e mortalidade em vitelos. O selénio e a vitamina E protegem as membranas celulares, desempenhando um papel importante no sistema imunitário. A vitamina E não atravessa a placenta, os vitelos estão dependentes da que está presente no colostro. Por seu lado, o selénio atravessa a placenta e também está disponível no colostro.

Em manadas com problemas de diarreia é necessário cuidado com a administração de aditivos alimentares, pois apesar destes poderem ter efeitos benéficos a nível individual, podem alterar o equilíbrio da flora intestinal, o tempo de trânsito, a digestibilidade, a absorção e a saúde intestinal se usados de maneira incorrecta (McGuirk, 2008).

12 - Influência do “*Stress*”

É conhecido que o “*stress*” tem efeitos negativos na função imunitária. No entanto, apenas recentemente se reconheceram os seus efeitos a curto e longo prazo. O “*stress*” a curto prazo tem um efeito imuno-estimulador, enquanto que a longo prazo pode ter um efeito imuno-supressor (Carrol & Forsberg, 2007). No caso de “*stress*” resultante de ameaças agudas como mordeduras, feridas ou agressões físicas, são libertadas hormonas como o cortisol que preparam o organismo para a possível invasão por agentes patogénicos e infecção. No entanto, quando um animal está exposto a “*stress*” prolongado, a resposta do organismo muda para uma supressão da função imune (Carrol & Forsberg, 2007; Edwards, 2010). Os corticosteróides libertados em situações de “*stress*” reduzem o número de células com capacidade de fagocitose, possivelmente devido à inibição de libertação de substâncias quimiotáticas; também reduzem a função dos linfócitos e a produção de anticorpos (Stilwell G. & Matos M.).

O “*stress*” excessivo tem como consequências a diminuição da performance de crescimento e produção e um aumento de morbilidade e mortalidade nos animais (Carrol & Forsberg, 2007). Em estudos (Voisnet *et al.*, 1997; Oliphint *et al.*, 2006) citados por Edwards (2010) já foi encontrada uma correlação entre animais hiper-excitáveis, menores performances e impacto negativo na resposta imune a seguir à vacinação.

Existem vários factores na produção animal que podem provocar “*stress*” aos bovinos, tais como factores de manejo, nutrição, transporte, ambiente, que podem diminuir a produtividade e bem-estar. O “*stress*” em gado pode ser dividido em três tipos: psicológico, fisiológico e físico. O “*stress*” psicológico está relacionado com medo, relações sociais, exposição a novos ambientes, sons altos ou estranhos ou limitação de movimentos. O “*stress*” fisiológico resulta de desvios na função endócrina ou neuro-endócrina, causados por restrição ou deficiência de nutrientes ou alterações glandulares. O “*stress*” físico advém de feridas, processos como castração, temperaturas extremas, fome, sede, fadiga ou doença. Muitos destes factores podem ser controlados ou evitados através de mudanças de manejo (Carrol & Forsberg, 2007).

Durante muitos anos de intensificação da produção animal, os produtores recorreram ao uso de medicina preventiva e anti-microbianos para a prevenção, controlo de doenças e aumentos das performances e taxas de produtividade. Nos últimos anos o uso de anti-microbianos está mais controlado devido à preocupação com a passagem destes para os alimentos humanos e ao aumento de resistências bacterianas a antimicrobianos (Carrol & Forsberg, 2007). Deve ser dada prioridade à prevenção de doença que passa inevitavelmente pela redução dos níveis de

“*stress*” a que os animais estão sujeitos. Isto tem de ser praticado em todas as operações que envolvam os animais. É essencial conhecer bem o comportamento dos bovinos (Edwards, 2010).

13 - Trabalho experimental

13.1 - Objectivos

Esta dissertação de Mestrado tem como objectivo a “Medição de proteínas séricas e imunoglobulinas como indicador da transferência de imunidade passiva em vitelos”.

É conhecido que o nível de imunidade passiva tem grande influência na saúde dos vitelos durante as primeiras semanas de vida. O propósito deste estudo foi avaliar o estado da imunidade passiva dos vitelos recebidos numa exploração de engorda e determinar a influência deste na saúde dos mesmos. Para avaliar o estado da imunidade passiva recorreu-se à medição da proteína total sérica usando um refractómetro e à determinação da concentração de imunoglobulinas séricas recorrendo ao teste de precipitação do sulfito de sódio. Os vitelos escolhidos para o estudo, foram vitelos recém-chegados à exploração (menos de uma semana) com menos de 21 dias de idade. O estado de saúde dos vitelos em estudo foi seguido durante o período de um mês, desde o dia da recolha de sangue.

13.2 - A exploração

A exploração que serviu de base para o estudo (Pinhalgados) situa-se em Pegões, no concelho do Montijo. A principal actividade desta exploração é a engorda de vitelos macho com menos de um mês de idade na sua maioria, provenientes de várias explorações leiteiras portuguesas localizadas a várias distâncias desde os 16 km até 390 km, destinando-se a posterior venda aproximadamente dois meses mais tarde.

A exploração tem dois tipos de instalações para os vitelos recém-chegados: casotas individuais no exterior com um telheiro por cima (fig.5) e um pavilhão fechado com cubículos individuais separados por painéis sólidos (fig.6) e ventilação natural através de aberturas

Figura 5 - Casotas no exterior na exploração em estudo



Figura 6 - Pavilhão fechado na exploração em estudo



laterais e fenda no tecto. No pavilhão, os vitelos estão separados por painéis sólidos o que dificulta a ventilação eficiente dos cubículos. O interior do pavilhão é frequentemente lavado com mangueiras, aumentando a humidade dentro deste e facilitando a dispersão de agentes patogénicos pelo ar.

A alimentação baseia-se em leite de substituição com proteína à base de proteína vegetal fornecido duas vezes por dia, cerca de três litros em cada refeição e alimento concentrado. Esta quantidade de leite é fornecida a todos os vitelos independentemente do seu tamanho, temperatura ambiente ou estado de saúde. O

alimento concentrado é preparado nas próprias instalações, sob a forma de farelo, estando este sempre disponível.

Dentro do pavilhão, o alimento concentrado é fornecido em baldes que estão colocados ao lado dos baldes da água sem nenhuma separação, o que resulta em conspurcação tanto da água com alimento concentrado como do alimento concentrado com água. No entanto, mesmo no exterior onde os baldes têm

separação verifica-se conspurcação do balde da água (fig.7). Sendo o mesmo balde utilizado para a água e para as refeições de leite, este encontra-se sempre conspurcado com restos de leite e de alimento concentrado. Tudo isto tem como consequência a água oferecida nunca estar limpa.

O plano de vacinação consiste na administração de Rispoval 4®; 5ml por via intramuscular; (estirpes atenuadas de BRSV e PI3 e estirpes inactivadas de IBR e BVD citopático e não citopático tipo 1) na 2ª e 5ª semana na exploração. Também é administrada Bravoxin 10® ou Covexin 10®; ambas 2ml por via subcutânea (estirpes inactivadas de *Clostridium perfringens* A, B, C e D; *C. chauvoei*; *C. novyi* tipo B; *C. septicum*; *C. sordellii*; *C. haemolyticum* e *C. tetani*) na 7ª semana na exploração. Normalmente os vitelos saem antes do reforço; caso não saiam, é-lhes administrada nova dose de Bravoxin 10® ou Covexin 10® às 13 semanas na exploração.

Os animais doentes são identificados pelos trabalhadores da exploração, durante os procedimentos de manejo diários, como alimentação e limpezas, com base na atitude dos animais e na medição da temperatura rectal. São também os trabalhadores que administram os fármacos aos vitelos baseando-se num protocolo terapêutico existente na exploração e definido previamente pelo Médico Veterinário.

Figura 7 - Balde de água/leite na exploração. Pode-se observar como o balde tem resíduos de alimento concentrado e a água está suja.



O protocolo terapêutico, em caso de doença respiratória, consiste em ceftiofur (Naxcel®) administrado na base da orelha (1ml/30kg de peso vivo) + carprofeno (Rimadyl®) por via subcutânea (1ml/35kg de peso vivo), florfenicol+ flunixin meglumine (Resflor®) por via subcutânea (2ml/15kg de peso vivo) ou danofloxacina (Advocin 180®) por via subcutânea (1ml/30kg de peso vivo) + carprofeno por via subcutânea (1ml/35kg de peso vivo), repetindo-se em caso de necessidade às 48 horas, se se mantiverem os sinais de doença, o protocolo terapêutico é reiniciado.

No caso de diarreia, é administrado trimetoprim+sulfadoxina (Gorban®) 5ml por via intramuscular durante 3 dias; ou é administrada danofloxacina por via subcutânea (1ml/30kg de peso vivo) uma vez, repetindo-se, em caso de necessidade, 48 horas depois. São fornecidos electrólitos (baseados em cloreto de sódio, bicarbonato de sódio, cloreto de potássio, glucose e glicina) de 1 a 3 dias em função da evolução clínica do vitelo.

Os animais identificados como doentes e sujeitos a tratamento são deixados no local onde estavam, não existindo uma área hospitalar para separação dos animais doentes dos saudáveis, tratamento e recuperação.

13.3 - Materiais e Métodos

Os vitelos escolhidos para o estudo foram vitelos recém-chegados à exploração (há menos de uma semana). Inicialmente foram escolhidos para este estudo 45 animais. Desses, apenas 35 vitelos foram alvo de estudo e colheita de dados por terem menos de 21 dias de idade.

Os vitelos eram provenientes de explorações leiteiras de diversos locais e a variadas distâncias da exploração de Pegões. O 1º grupo de 16 animais tinha origens variadas, como de Mariniais, no concelho de Salvaterra de Magos (58km), de Alvalade, no concelho de Santiago do Cacém (99km), de Laúndos (367km) e de Rates, no concelho de Póvoa de Varzim (367km), de Ferreiró, Bagunte, Junqueira, Arcos, no concelho de Vila do Conde (367km) e de Barqueiros, no concelho de Barcelos (390km). A distância média das explorações de origem à exploração em estudo em Pegões foi de 253 km. O 2º grupo de vitelos, composto por 19 animais, era proveniente de Odemira, Longueira e Almogrove, no concelho de Odemira, a uma distância média de 160 km. A distância média das explorações de origem dos dois grupos até à exploração em estudo em Pegões foi de 197km.

O 1º grupo chegou aproximadamente uma semana antes do 2º grupo. O 1º grupo foi colocado dentro do pavilhão fechado, em cubículos individuais com separadores sólidos, enquanto que o 2º grupo foi colocado no exterior em casotas individuais.

O estado de imunidade passiva dos vitelos era desconhecido. O grupo em estudo tinha uma idade média de 14,9 dias (σ : desvio padrão =3,8 dias).

A todos os animais foi recolhida uma amostra de sangue e efectuado um exame físico no mesmo dia, sendo estes procedimentos efectuados três dias após a chegada dos animais à exploração. Foi recolhida uma amostra de sangue da jugular de cada um, com uma agulha de 20G, com 1'' acoplada a uma seringa de 5ml, sem anticoagulante. As amostras foram refrigeradas até serem processadas no laboratório. As amostras foram processadas e analisadas no “Laboratório de Análises Clínicas Prof. Dr. Braço Forte Júnior” na Faculdade de Medicina Veterinária pela autora do estudo e dissertação de mestrado.

As amostras foram refrigeradas durante 24 horas para permitir a contracção do coágulo e seguidamente foram centrifugadas durante 10 minutos a 70 rpm (rotações por minuto). O soro foi então recolhido para efectuar as análises propostas: medição de proteína total sérica com o refractómetro e teste de precipitação com sulfito de sódio. Cada análise a cada amostra de soro foi efectuada uma vez.

13.3.1 - Proteína Total sérica através do refractómetro – Protocolo (Leadley, 2011)

- 1- Preparou-se o refractómetro tendo-o limpo e seco;
- 2- Pipetaram-se 0,5 ml de soro sobrenadante sem tocar no coágulo;
- 3- Com a tampa do refractómetro aberta colocou-se soro suficiente na superfície óptica para cobrir cerca de metade desta;
- 4- Leu-se o valor de proteína total. A linha que separa a zona escura da clara marcava o nível de proteína total.

13.3.2 - Teste de precipitação com sulfito de sódio - Protocolo (Thrall *et al.*, 2004)

- 1- Prepararam-se três soluções de sulfito de sódio anidro e água destilada a três concentrações diferentes (14, 16 e 18%);
- 2- Colocaram-se 1,9 ml de solução em cada um dos três tubos de teste;
- 3- Adicionaram-se 0,1 ml de soro a cada um dos tubos;
- 4- Misturou-se imediatamente e deixou-se incubar a temperatura ambiente durante uma hora;
- 5- Após uma hora observaram-se os tubos e procuraram-se evidência de precipitação;
- 6- Interpretou-se como descrito na tabela 2.

Figura 8- Exemplo de precipitação a 16% e 18%

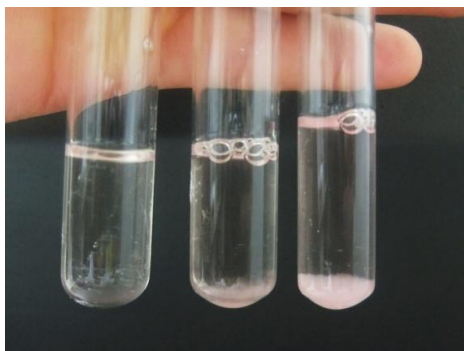


Tabela 2: Interpretação do teste de precipitação com sulfito de sódio

	14%	16%	18%
<500 mg/dl	-	-	+
500-1000mg/dl	-	+	+
>1500mg/dl	+	+	+

- sem precipitação após uma hora, turvação sem flocos não é considerado positivo.

+ com flocos ou precipitação após uma hora. Se houver flocos, o resultado é considerado positivo independentemente da densidade dos mesmos (Thrall *et al.*, 2004).

13.3.3 – Exames físicos

No dia da recolha de sangue, foram também realizados exames físicos a todos os vitelos no estudo. Os exames físicos foram repetidos duas vezes por semana durante um período de um mês com o objectivo de monitorizar a saúde dos animais. Os parâmetros examinados foram: reflexo de sucção (ausente ou presente e força do mesmo), estado de hidratação (avaliação da duração da prega de pele, considerado anormal acima de 2 segundos), aspecto dos globos oculares (considerados anormais quando afundados nas órbitas), avaliação do umbigo (tamanho, temperatura, consistência, dor à palpação, presença de hérnia), frequência cardíaca (normal entre 100-140) e respiratória (normal entre 30-60), auscultação cardíaca e pulmonar (tipo de sons), aspecto das fezes (consistência e presença de muco ou sangue), temperatura rectal (normal no intervalo de 39 a 40,5°) e atitude geral (considerados anormais animais desinteressados, deprimidos e em decúbito após estimulação). Foi considerada doença respiratória crónica quando os sons pulmonares, atitude deprimida e mau aspecto do pêlo se mantiveram durante mais de 12 dias. Estes parâmetros foram avaliados pela autora do estudo e da dissertação de mestrado.

13.3.4 – Tratamento de dados

Os testes estatísticos e tabelas para o tratamento dos dados obtidos no estudo, foram efectuados através do programa informático “*IBM® SPSS® Statistics version 19*”. A interpretação dos mesmos foi de acordo com a publicação de Callegari-Jacques (2004): Bioestatística, princípios e aplicações. Para interpretação dos resultados dos testes de Qui-quadrado, foi usada a tabela no anexo I sempre para um nível de confiança de 95% ($\alpha=0,05$).

13.4 – Resultados

13.4.1 - População em estudo

O total de animais inicialmente escolhidos foi de 45 animais; 10 destes animais foram excluídos por terem idade superior a 21 dias. O conjunto de 35 animais com idade inferior a 21 dias foi estudado e sujeito a discussão dos resultados obtidos.

A idade média destes vitelos era de 14,9 dias, com um desvio padrão de 3,8 dias, no dia em que se efectuaram as análises laboratoriais e exames físicos iniciais. O animal mais novo tinha 9 dias e o mais velho tinha 21 dias. A distribuição das idades pelo 1º, 2º e 3º quartil foi de 12, 15 e 19 dias respectivamente (tabela 3).

Destes 35 animais, 16 pertenciam ao 1º grupo (contribuindo com 45,7% para o total de animais) e 19 ao 2º grupo (contribuindo com 54,3% para o total de animais) (tabela 4).

Tabela 3: Idade dos vitelos (dias)

Média	14,90
Desvio Padrão	3,798
Mínimo	9
Máximo	21
Quartis	25
	50
	75

Tabela 4: Distribuição dos vitelos pelos dois grupos

	Número de animais	Percentagem
1º Grupo	16	45,7
2º Grupo	19	54,3
Total	35	100,0

13.4.2 - Distribuição dos animais pelos valores de proteína total sérica

Em relação aos valores de proteína total, havia 3 animais (8,6%) com]5; 5,5] g/dl, 17 animais (48,6%) com]5,5; 6] g/dl, 9 animais (25,7%) com]6; 6,5[g/dl e 6 animais (17,1%) com]6,5; 7[g/dl. Os intervalo de valores de proteína total com maior número de animais foi o de]5,5; 6] g/dl com 48,6% dos animais e]6; 6,5[g/dl com 25,7%, perfazendo 74,3% do total dos animais estudados (tabela 5).

Considerando valores de proteína total inferiores a 5,5 g/dl como indicadores de falha de transferência imunitária, apenas 3 animais (8,6% do total) podem ser classificados como tendo falha de transferência imunitária passiva através do parâmetro da proteína total sérica. Considerando valores de proteína total inferiores a 6 g/dl (devido a possível desidratação e falsa elevação dos valores medidos) como indicadores de falha de transferência imunitária, existem 20 animais (57,1% do total) que podem ser considerados como tendo falha de transferência imunitária passiva através do parâmetro da proteína total sérica.

Tabela 5: Distribuição dos animais pelos valores de proteína total sérica

Proteína total sérica	Número de animais	Percentagem	Percentagem Cumulativa
]5; 5,5] g/dl	3	8,6	8,6
]5,5; 6] g/dl	17	48,6	57,1
]6; 6,5[g/dl	9	25,7	82,9
]6,5; 7[g/dl	6	17,1	100,0
Total	35	100,0	

13.4.3 - Distribuição dos animais pela concentração de imunoglobulinas

Em relação ao concentração de imunoglobulinas, havia 3 animais com <500 mg/dl (8,6% do total), 24 animais entre 500-1000 mg/dl (68,6% do total) e 8 animais com >1500 mg/dl (22,9% do total). Existe uma distribuição evidente da maioria dos animais (68,6%) na concentração entre 500-1000 mg/dl (tabela 6).

Considerando indicadores de falha de transferência imunitária os níveis de imunoglobulinas de <500 e 500-1000 mg/dl, 27 animais (77,1%), podem ser classificados como tendo falha de transferência imunitária através do parâmetro da concentração de imunoglobulinas.

Tabela 6: Distribuição dos animais pela concentração de imunoglobulinas

Concentração de imunoglobulinas	Número de animais	Porcentagem	Porcentagem Cumulativa
<500 mg/dl	3	8,6	7,3
500-1000 mg/dl	24	68,6	77,1
>1500 mg/dl	8	22,9	100,0
Total	35	100,0	

13.4.4 - Divisão dos vitelos por categorias de imunidade

Conjugando a concentração de imunoglobulinas e os valores de proteína total sérica para dividir os animais por categorias de imunidade, têm-se 3 categorias (tabela 7): (1) com níveis de imunoglobulinas <500 mg/dl ou 500-1000 mg/dl com valores de proteína total sérica <5,5 g/dl; (2) com concentração de imunoglobulinas entre 500-1000 mg/dl e (3) com concentração de imunoglobulinas >1500 mg/dl, ambos com valores de proteína total sérica >5,5 g/dl. A categoria 1 corresponde aos animais que apresentaram valores indicadores de falha de transferência imunitária tanto na concentração de imunoglobulinas como nos valores de proteína total sérica. As categoria 2 e 3 correspondem a animais que apresentaram valores de proteína total considerados aceitáveis com concentrações de imunoglobulinas entre 500-1000 mg/dl e >1500 mg/dl, respectivamente.

Tabela 7: Distribuição dos vitelos por concentração de imunoglobulinas e valor de proteína sérica total

Ig (mg/dl) PT (g/dl)	<500	500-1000	>1500	Total	
]5; 5,5]	1	2	0	3	1- Ig <500 mg/dl ou 500-1000 mg/dl com <5,5 g/dl PT
]5,5; 6]	2	12	3	17	2- Ig 500-1000 mg/dl e >5,5 g/dl PT
]6; 6,5[0	8	1	9	3 - Ig >1500 mg/dl e >5,5 g/dl PT
]6,5; 7[0	2	4	6	
Total	3	24	8	35	

PT – Proteína total

Os animais da categoria 1 podem ser considerados como tendo falha de transferência imunitária, os animais com categoria 2 podem ser considerados como tendo ou não falha de transferência imunitária e os animais da categoria 3 podem ser considerados como tendo recebido uma transferência imunitária passiva adequada.

Na categoria 1 existem 5 animais (14,3%), na categoria 2 existem 22 animais (62,9%) e na categoria 3 existem 8 animais (22,9%) (tabela 8). A maior parte dos animais (62,9%) têm categoria 2 de imunidade, juntamente com os animais da categoria 1 (14,3%) resulta em 77,1% do total dos animais.

Segundo esta divisão, 14,3% dos animais podem ser classificados como tendo falha de transferência de imunidade passiva, 62,9% como tendo níveis de imunidade possivelmente adequados e 22,9% dos animais com imunidade passiva adequada.

Tabela 8: Divisão por categoria de imunidade

Categoria de imunidade	Número de animais	Percentagem	Percentagem Cumulativa
Categoria 1	5	14,3	14,3
Categoria 2	22	62,9	77,1
Categoria 3	8	22,9	100,0
Total	35	100,0	

13.4.5 - Incidência de doença observada

Os dois tipos de doença observados nos animais em estudo foram diarreia e doença respiratória.

No total, 48,6% dos animais sofreu pelo menos um episódio de doença e a 51,4% dos animais não foi detectado nenhum episódio de doença. Dos animais doentes, 70,6% apresentaram doença respiratória e 29,4% apresentaram diarreia. Houve uma incidência no total dos animais de doença respiratória de 34,3% e de diarreia de 14,3% (tabela 9).

Tabela 9: Incidência e tipo de doença

		Tipo de doença			Total
		Doença respiratória	Diarreia	Sem doença	
Sem doença	Número	0	0	18	18
	% Incidência Doença	,0%	,0%	100,0%	100,0%
Doença	Número	12	5	0	17
	% Incidência Doença	70,6%	29,4%	,0%	100,0%
Total	Número	12	5	18	35
	% Total	34,3%	14,3%	51,4%	100,0%

Doença (17 animais):

- (12) 70,6% Doença respiratória
- (5) 29,4% Diarreia

Dentro dos animais afectados por doença respiratória, metade destes (6 animais; 17,1% do total dos animais e 50% dos doentes respiratórios) foi afectado por doença respiratória crónica (tabela 10).

Tabela 10: Incidência de doença respiratória crónica

	Número de animais	Percentagem
Diarreia ou não doentes	23	65,7
Cura clínica doença respiratória	6	17,1
Cronicidade doença respiratória	6	17,1
Total	35	100,0

13.4.6 - Mortalidade observada

Apenas um animal morreu durante o estudo (2,8% do total de animais), este era um vitelo com uma concentração de imunoglobulinas de <500 mg/dl e 6 g/dl de proteína total sérica, sofria de doença respiratória crónica e fazia parte do 1º grupo.

14.4.7 - Incidência de doença

14.4.7.1 – Incidência de doença e valores de proteína total sérica

Analisando a distribuição da incidência de doença (doença respiratória ou diarreia) pelos vários intervalos de proteína total, verifica-se que é no intervalo]5,5; 6] g/dl que a maior parte dos animais afectados com doença se encontram (64,7%). Dentro dos animais que apresentaram doença, 76,5% dos mesmos tinham níveis de proteína total nos intervalos de]5; 5,5] (11,8%) e]5,5; 6] g/dl (64,7%) (tabela 11). Também se verifica que nos mesmos intervalos a proporção de animais doentes (37,1%) é superior à de animais saudáveis (20,0%). Em oposição, nos intervalos de proteína total de]6; 6,5[e]6,5; 7[g/dl a proporção de animais saudáveis (31,4%) é superior à de animais afectados com doença (11,4%).

Tabela 11: Incidência de doença pelos valores de proteína total sérica

		Incidência Doença		Total
		Sem doença	Doença (doença respiratória ou diarreia)	
]5; 5,5] g/dl	Número	1	2	3
	% Intervalo proteína total	33,3%	66,7%	100,0%
	% Incidência doença	5,6%	11,8%	8,6%
	% Total	2,9%	5,7%	8,6%
]5,5; 6] g/dl	Número	6	11	17
	% Intervalo proteína total	35,3%	64,7%	100,0%
	% Incidência Doença	33,3%	64,7%	48,6%
	% Total	17,1%	31,4%	48,6%
]6; 6,5[g/dl	Número	7	2	9
	% Intervalo Proteína total	77,8%	22,2%	100,0%
	% Incidência Doença	38,9%	11,8%	25,7%
	% doTotal	20,0%	5,7%	25,7%
]6,5; 7[g/dl	Número	4	2	6
	% no intervalo Proteína total	66,7%	33,3%	100,0%
	% em Incidência Doença	22,2%	11,8%	17,1%
	% do Total	11,4%	5,7%	17,1%
Total	Número	18	17	35
	% no intervalo Proteína total	51,4%	48,6%	100,0%
	% em Incidência Doença	100,0%	100,0%	100,0%
	% do Total	51,4%	48,6%	100,0%

Para testar a associação entre as duas variáveis: incidência de doença e valor de proteína total, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 5,224$ e $p = 0,156$, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre incidência de doença e valores proteína total sérica: $\chi^2 = 5,224$; gl (graus de liberdade) = 3; $p = 0,156$, para um nível de confiança de 95%.

13.4.7.2 - Incidência doença e concentração de imunoglobulinas

Analisando os dados sobre a incidência de doença (doença respiratória ou diarreia) e concentração de imunoglobulinas, pode-se observar que a proporção de animais sem doença aumenta em cada concentração de imunoglobulinas: <500 mg/dl com 33,3%, 500-1000 mg/dl com 45,8% e >1500 mg/dl com 75,0%. Percebe-se que o número de animais saudáveis e doentes dentro das duas primeiras concentrações de imunoglobulinas são bastante próximos: <500 mg/dl ($n = 1$; 2,9% e $n = 2$; 5,7%, respectivamente) e 500-1000 mg/dl ($n = 11$; 31,4% e $n = 13$; 37,1%, respectivamente). Na concentração de >1500 mg/dl já existe alguma diferença entre o número de animais saudáveis e doentes ($n = 6$; 17,1% e $n = 2$; 5,7%, respectivamente). Também se observa que nos dois primeiros níveis, <500 e entre 500-1000 mg/dl, a percentagem de animais com doença (5,7% e 37,1% respectivamente) é superior à de animais saudáveis (2,9% e 31,4% respectivamente). No entanto, na concentração de >1500 mg/dl a percentagem de animais com doença (5,7%) é inferior à de animais saudáveis (17,1%) (tabela 12).

Tabela 12: Incidência de doença e concentração de imunoglobulinas

		Incidência Doença		Total
		Sem doença	Doença (doença respiratória ou diarreia)	
<500 mg/dl	Número	1	2	3
	% Nível imunoglobulinas	33,3%	66,7%	100,0%
	% Incidência Doença	5,6%	11,8%	8,6%
	% Total	2,9%	5,7%	8,6%
500-1000 mg/dl	Número	11	13	24
	% Nível imunoglobulinas	45,8%	54,2%	100,0%
	% Incidência Doença	61,1%	76,5%	68,6%
	% Total	31,4%	37,1%	68,6%
>1500 mg/dl	Número	6	2	8
	% Nível imunoglobulinas	75,0%	25,0%	100,0%
	% Incidência Doença	33,3%	11,8%	22,9%
	% Total	17,1%	5,7%	22,9%
Total	Número	18	17	35
	% Nível imunoglobulinas	51,4%	48,6%	100,0%
	% Incidência Doença	100,0%	100,0%	100,0%
	% Total	51,4%	48,6%	100,0%

Para testar a associação entre as duas variáveis: incidência de doença e concentração de imunoglobulinas foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 2,473$ e $p = 0,290$, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios são não significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre incidência de doença e concentração imunoglobulinas: $\chi^2 = 2,473$; gl = 2; $p = 0,290$, para um nível de confiança de 95%.

13.4.7.3 - Incidência de doença e divisão por categoria imunidade

Observando a incidência de doença (doença respiratória e diarreia) pelas 3 categorias de imunidade, percebe-se que existe maior proporção de animais que foram atingidos por doença na 1ª categoria (80%), seguido da 2ª categoria (50%) e finalmente da 3ª categoria (25%). Na 1ª categoria a proporção de animais doentes é superior à de animais saudáveis (80% e 20% respectivamente), na 2ª categoria a proporção de animais doentes e saudáveis é igual (50%

cada) e na 3ª categoria a proporção de animais doentes é inferior à de animais saudáveis (25% e 75% respectivamente) (tabela 13).

Tabela 13: Incidência de doença e divisão por categoria imunidade

		Incidência de doença		Total
		Sem doença	Doença (doença respiratória ou diarreia)	
Categoria 1	Número	1	4	5
	% Categoria Imunidade	20,0%	80,0%	100,0%
	% Incidência de doença	5,6%	23,5%	14,3%
	% Total	2,9%	11,4%	14,3%
Categoria 2	Número	11	11	22
	% Categoria Imunidade	50,0%	50,0%	100,0%
	% Incidência de doença	61,1%	64,7%	62,9%
	% Total	31,4%	31,4%	62,9%
Categoria 3	Número	6	2	8
	% Categoria Imunidade	75,0%	25,0%	100,0%
	% Incidência de doença	33,3%	11,8%	22,9%
	% Total	17,1%	5,7%	22,9%
Total	Número	18	17	35
	% Categoria Imunidade	51,4%	48,6%	100,0%
	% Incidência de doença	100,0%	100,0%	100,0%
	% Total	51,4%	48,6%	100,0%

Categoria 1 - Ig <500 mg/dl ou 500-1000 mg/dl e PT <5,5 g/dl

Categoria 2 - Ig 500-1000 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Categoria 3 - Ig >1500 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Para testar a associação entre as duas variáveis: incidência de doença e categoria de imunidade, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 3,775$ e $p = 0,151$, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre incidência de doença e categoria de imunidade: $\chi^2 = 3,775$; gl = 2; $p = 0,151$; para um nível de confiança de 95%.

13.4.7.4 - Incidência de doença e grupo de vitelos

Observando os valores de incidência de doença (doença respiratória ou diarreia) nos dois grupos de vitelos, percebe-se haver uma diferença na distribuição dos animais saudáveis e doentes pelos mesmos. A maior parte dos animais doentes (70,6%) faz parte do 1º grupo e a maior parte dos animais saudáveis faz parte do 2º grupo (77,8%) (tabela 14).

Tabela 14: Incidência de doença e grupo de vitelos

		Incidência Doença		Total
		Sem doença	Doença (doença respiratória ou diarreia)	
1º Grupo	Número	4	12	16
	% Grupo	25,0%	75,0%	100,0%
	% Total dos animais	22,2%	70,6%	45,7%
	% Total	11,4%	34,3%	45,7%
2º Grupo	Número	14	5	19
	% Grupo	73,7%	26,3%	100,0%
	% Total dos animais	77,8%	29,4%	54,3%
	% Total	40,0%	14,3%	54,3%
Total	Número	18	17	35
	% Grupo	51,4%	48,6%	100,0%
	% Total dos animais	100,0%	100,0%	100,0%
	% Total	51,4%	48,6%	100,0%

Para testar a associação entre as duas variáveis: incidência de doença e grupo de vitelos foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 8,241$, $gl = 1$ e $p = 0,004$, as variáveis não são consideradas independentes, existe associação estatística entre estas. Os desvios são significativos. Como se trata de uma tabela de dupla entrada, o teste exacto de Fisher deve ser o considerado, em que $p = 0,005$. As variáveis não são independentes e existe associação estatística entre estas. Os desvios são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre incidência de doença e grupo de vitelos:

$\chi^2 = 8,241$; $gl = 1$; $p = 0,004$; para um nível de confiança de 95%.

Teste exacto de Fisher: $p = 0,005$; para um nível de confiança de 95%.

13.4.8 - Tipo de doença

13.4.8.1 - Tipo de doença e proteína total sérica

Quanto ao tipo de doença (respiratória, diarreia ou sem doença), pode-se observar que a maior parte dos animais com doença respiratória (83,3% do total de doentes respiratórios; 58,8% dentro do intervalo de proteína total sérica) têm proteína total no intervalo de]5,5; 6[g/dl. A distribuição de animais com diarreia parece ser igual à de doença respiratória no intervalo de]5; 5,5] g/dl (33,3%), menor no intervalo]5,5; 6[g/dl (5,9%) e bastante semelhante nos intervalos de]6; 6,5[e]6,5; 7[g/dl (22,2% e 16,7%) respectivamente (tabela 15).

Tabela 15: Tipo de doença e proteína total sérica

		Tipo de doença			Total
		Doença respiratória	Diarreia	Sem doença	
]5; 5,5] g/dl	Número	1	1	1	3
	% Proteína total	33,3%	33,3%	33,3%	100,0%
	% Tipo de doença	8,3%	20,0%	5,6%	8,6%
	% Total	2,9%	2,9%	2,9%	8,6%
]5,5; 6[g/dl	Número	10	1	6	17
	% Proteína total	58,8%	5,9%	35,3%	100,0%
	% Tipo de doença	83,3%	20,0%	33,3%	48,6%
	% Total	28,6%	2,9%	17,1%	48,6%
]6; 6,5[g/dl	Número	0	2	7	9
	% Proteína total	,0%	22,2%	77,8%	100,0%
	% Tipo de doença	,0%	40,0%	38,9%	25,7%
	% Total	,0%	5,7%	20,0%	25,7%
]6,5; 7[g/dl	Número	1	1	4	6
	% Proteína total	16,7%	16,7%	66,7%	100,0%
	% Tipo de doença	8,3%	20,0%	22,2%	17,1%
	% Total	2,9%	2,9%	11,4%	17,1%
Total	Número	12	5	18	35
	% Proteína total	34,3%	14,3%	51,4%	100,0%
	% Tipo de doença	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% Total	34,3%	14,3%	51,4%	100,0%

Para testar a associação entre as duas variáveis: tipo de doença e valor de proteína total, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 11,175$ e $p = 0,083$, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre tipo de doença e valor de proteína total sérica: $\chi^2 = 11,175$; gl = 6; p = 0,083; para um nível de confiança de 95%.

13.4.8.2 - Tipo de doença e concentração de imunoglobulinas

Analisando o tipo de doença (respiratória, diarreia ou sem doença) em relação à concentração de imunoglobulinas, a proporção de animais com doença respiratória diminui em cada concentração de imunoglobulinas: <500 mg/dl com 66,7%, 500-1000 mg/dl com 37,5% e >1500 mg/dl com 12,5%. A proporção de animais com diarreia não varia muito entre cada concentração de imunoglobulinas (tabela 16).

Tabela 16: Tipo de doença e concentração de imunoglobulinas

		Tipo de doença			Total
		Doença respiratória	Diarreia	Sem doença	
<500 mg/dl	Número	2	0	1	3
	% Concentração Imunoglobulinas	66,7%	,0%	33,3%	100,0%
	% Tipo de doença	16,7%	,0%	5,6%	8,6%
	% Total	5,7%	,0%	2,9%	8,6%
500-1000 mg/dl	Número	9	4	11	24
	% Concentração Imunoglobulinas	37,5%	16,7%	45,8%	100,0%
	% Tipo de doença	75,0%	80,0%	61,1%	68,6%
	% Total	25,7%	11,4%	31,4%	68,6%
>1500 mg/dl	Número	1	1	6	8
	% Concentração Imunoglobulinas	12,5%	12,5%	75,0%	100,0%
	% Tipo de doença	8,3%	20,0%	33,3%	22,9%
	% Total	2,9%	2,9%	17,1%	22,9%
Total	Número	12	5	18	35
	% Concentração Imunoglobulinas	34,3%	14,3%	51,4%	100,0%
	% Tipo de doença	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% Total	34,3%	14,3%	51,4%	100,0%

Para testar a associação entre as duas variáveis: tipo de doença e concentração de imunoglobulinas, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 3,840$ e p = 0,428, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre tipo de doença e concentração de imunoglobulinas: $\chi^2 = 3,840$; gl = 4; p = 0,428; para um nível de confiança de 95%.

13.4.8.3 - Tipo de doença e divisão por categoria imunidade

Analisando o tipo de doença mais prevalente dentro de cada categoria de imunidade percebe-se que a percentagem de animais com doença respiratória vai diminuindo com o aumento da categoria de imunidade (60% na 1ª, 36,4% na 2ª e 12,5% na 3ª categoria). A percentagem de animais com diarreia comporta-se do mesmo modo (20% na 1ª, 13,6% na 2ª e 12,5% na 3ª categoria) (tabela 17).

Tabela 17: Tipo de doença e divisão por categoria imunidade

		Tipo de doença			Total
		Doença respiratória	Diarreia	Sem doença	
Categoria 1	Número	3	1	1	5
	% Categoria Imunidade	60,0%	20,0%	20,0%	100,0%
	% Tipo de doença	25,0%	20,0%	5,6%	14,3%
	% Total	8,6%	2,9%	2,9%	14,3%
Categoria 2	Número	8	3	11	22
	% Categoria Imunidade	36,4%	13,6%	50,0%	100,0%
	% Tipo de doença	66,7%	60,0%	61,1%	62,9%
	% Total	22,9%	8,6%	31,4%	62,9%
Categoria 3	Número	1	1	6	8
	% Categoria Imunidade	12,5%	12,5%	75,0%	100,0%
	% Tipo de doença	8,3%	20,0%	33,3%	22,9%
	% Total	2,9%	2,9%	17,1%	22,9%
Total	Número	12	5	18	35
	% Categoria Imunidade	34,3%	14,3%	51,4%	100,0%
	% Tipo de doença	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% Total	34,3%	14,3%	51,4%	100,0%

Categoria 1 - Ig <500 mg/dl ou 500-1000 mg/dl e PT <5,5 g/dl

Categoria 2 - Ig 500-1000 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Categoria 3 – Ig >1500 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Para testar a associação entre as duas variáveis: tipo de doença e categoria de imunidade, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 4,071$ e p = 0,396, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre tipo de doença e categoria de imunidade:

$\chi^2 = 4,071$; gl = 4; p = 0,396; para um nível de confiança de 95%.

13.4.8.4 - Tipo de doença e grupo de vitelos

Relacionando o tipo de doença com o grupo a que pertencem os vitelos observa-se que em relação à incidência de diarreia não houve grandes diferenças: 2 casos no 1º grupo (12,5% do total dos animais desse grupo) e 3 casos no 2º grupo (15,8% do total dos animais desse grupo). Em relação à incidência de doença respiratória já se observa uma diferença entre os dois grupos: 10 casos no 1º grupo (62,5% total dos animais desse grupo) e apenas 2 no 2º grupo (10,5% total dos animais desse grupo). A incidência total de doença respiratória nos animais do estudo (34,3%) divide-se em 28,6% no 1º grupo e 5,7% no 2º grupo. A percentagem de animais que não foram atingidos por nenhum episódio de doença também se mostra bastante diferente, sendo de 25% no 1º grupo e 73,7% no 2º grupo (tabela 18).

Tabela 18: Tipo de doença e grupo de vitelos

		Tipo de doença			Total
		Doença respiratória	Diarreia	Sem doença	
1º Grupo	Número	10	2	4	16
	% Grupo	62,5%	12,5%	25,0%	100,0%
	% Tipo de doença	83,3%	40,0%	22,2%	45,7%
	% Total	28,6%	5,7%	11,4%	45,7%
2º Grupo	Número	2	3	14	19
	% Grupo	10,5%	15,8%	73,7%	100,0%
	% Tipo de doença	16,7%	60,0%	77,8%	54,3%
	% Total	5,7%	8,6%	40,0%	54,3%
Total	Número	12	5	18	35
	% Grupo	34,3%	14,3%	51,4%	100,0%
	% Tipo de doença	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% Total	34,3%	14,3%	51,4%	100,0%

Para testar a associação entre as duas variáveis: tipo de doença e grupo de vitelos, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 10,912$ e p = 0,004, as variáveis não são consideradas independentes, existe associação estatística entre estas. Os desvios são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre tipo de doença e grupo de vitelos:

$\chi^2 = 10,912$; gl = 2; p = 0,004; para um nível de confiança de 95%.

13.4.9 – Cronicidade de doença respiratória observada

13.4.9.1 - Cronicidade de doença respiratória e proteína total sérica

Observa-se que no intervalo]5; 5,5] g/dl o único animal afectado com doença respiratória tornou-se doente crónico (16,7% do total dos animais afectados com doença respiratória crónica e 100% de taxa de cronicidade); no intervalo]5,5; 6] g/dl dos 10 animais afectados por doença respiratória, 4 tornaram-se doentes crónicos (66,7% do total dos animais afectados com doença respiratória crónica e 40% de taxa de cronicidade nesse intervalo); no intervalo]6; 6,5[g/dl nenhum animal foi afectado por doença respiratória e no intervalo]6,5; 7[g/dl o único animal afectado por doença respiratória tornou-se doente crónico (16,7% do total dos animais afectados por doença respiratória crónica e 100% de taxa de cronicidade). Todos os animais afectados por doença respiratória que atingiram a cura clínica (60% de taxa de cura nesse intervalo) têm valores de proteína no intervalo]5,5; 6] g/dl (tabela 19).

Tabela 19: Taxa de cronicidade de doença respiratória e proteína total sérica

		Doença respiratória crónica			Total	Taxa de Cura na doença respiratória	Taxa de Cronicidade na doença respiratória
		Cura	Doentes respiratórios crónicos	Diarreia ou nunca doente			
]5; 5,5] g/dl	Número	0	1	2	3	0	1
	% Proteína total	,0%	33,3%	66,7%	100,0%	,0%	100,0%
	% Doença respiratória crónica	,0%	16,7%	8,7%	8,6%	-	-
	% Total	,0%	2,9%	5,7%	8,6%	-	-
]5,5; 6] g/dl	Número	6	4	7	17	6	4
	% Proteína total	35,3%	23,5%	41,2%	100,0%	60,0%	40,0%
	% Doença respiratória crónica	100,0%	66,7%	30,4%	48,6%	-	-
	% Total	17,1%	11,4%	20,0%	48,6%	-	-
]6; 6,5[g/dl	Número	0	0	9	9	0	0
	% Proteína total	,0%	,0%	100,0%	100,0%	,0%	,0%
	% Doença respiratória crónica	,0%	,0%	39,1%	25,7%	-	-
	% Total	,0%	,0%	25,7%	25,7%	-	-
]6,5; 7[g/dl	Número	0	1	5	6	0	1
	% Proteína total	,0%	16,7%	83,3%	100,0%	,0%	100,0%
	% Doença respiratória crónica	,0%	16,7%	21,7%	17,1%	-	-
	% Total	,0%	2,9%	14,3%	17,1%	-	-
Total	Número	6	6	23	35	6	6
	% Proteína total	17,1%	17,1%	65,7%	100,0%	-	-
	% Doença respiratória crónica	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	-	-
	% Total	17,1%	17,1%	65,7%	100,0%	50,0%	50,0%

Para testar a associação entre as duas variáveis: cronicidade de doença respiratória e valor de proteína total, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 12,211$ e $p = 0,057$, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre cronicidade de doença respiratória e valor de proteína total sérica: $\chi^2 = 12,211$; gl = 6; $p = 0,057$; para um nível de confiança de 95%.

13.4.9.2 - Cronicidade de doença respiratória e concentração de imunoglobulinas

Analisando a taxa de cronicidade de doença respiratória pela concentração de imunoglobulinas, percebe-se que todos os doentes respiratórios correspondendo a 33,3% do total de doentes respiratórios crônicos foram classificados com tendo <500 mg/dl de imunoglobulinas (100% de taxa de cronicidade nessa concentração), os restantes 66,6% foram classificados como tendo entre 500-1000 mg/dl de imunoglobulinas (taxa de cronicidade de 44,4% nessa concentração) e não houve doentes respiratórios crônicos com classificação de >1500 mg/dl. As taxas de cura clínica foram maioritariamente na concentração de 500-1000 mg/dl (83,3%) e também na concentração de >1500 mg/dl (16,7%) (tabela 20).

Tabela 20: Taxa de cronicidade de doença respiratória e concentração de imunoglobulinas

		Doença respiratória crónica			Total	Taxa de Cura na doença respiratória	Taxa de Cronicidade na doença respiratória
		Cura	Cronicidade	Diarreia ou nunca doente			
<500 mg/dl	Número	0	2	1	3	0	2
	% Concentração imunoglobulinas	,0%	66,7%	33,3%	100,0%	,0%	100,0%
	% Doença respiratória crónica	,0%	33,3%	4,3%	8,6%	-	-
	% Total	,0%	5,7%	2,9%	8,6%	-	-
500-1000 mg/dl	Número	5	4	15	24	5	4
	% Concentração imunoglobulinas	20,8%	16,7%	62,5%	100,0%	55,5%	44,4%
	% Doença respiratória crónica	83,3%	66,7%	65,2%	68,6%	-	-
	% Total	14,3%	11,4%	42,9%	68,6%	-	-
>1500 mg/dl	Número	1	0	7	8	1	0
	% Concentração imunoglobulinas	12,5%	,0%	87,5%	100,0%	100,0%	,0%
	% Doença respiratória crónica	16,7%	,0%	30,4%	22,9%	-	-
	% Total	2,9%	,0%	20,0%	22,9%	-	-
Total	Número	6	6	23	35	6	6
	% Concentração imunoglobulinas	17,1%	17,1%	65,7%	100,0%	-	-
	% Doença respiratória crónica	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	-	-
	% Total	17,1%	17,1%	65,7%	100,0%	50,0%	50,0%

Para testar a associação entre as duas variáveis: cronicidade de doença respiratória e concentração de imunoglobulinas, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 7,566$ e $p = 0,109$, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre cronicidade de doença respiratória e concentração de imunoglobulinas: $\chi^2 = 7,566$; gl = 4; $p = 0,109$; para um nível de confiança de 95%.

13.4.9.3 - Cronicidade doença respiratória e divisão por categoria imunidade

Os doentes respiratórios crónicos foram animais na 1ª e 2ª categoria de imunidade. Na 1ª categoria todos os doentes respiratórios se tornaram doentes crónicos e representam 60% do total dos animais dessa categoria (100% de taxa de cronicidade). Na 2ª categoria os animais que se tornaram doentes crónicos representam 13,6% do total de animais dessa categoria (37,5% de taxa de cronicidade). Na 2ª categoria 22,7% do total dos animais dessa categoria atingiram a cura clínica, percentagem superior à de animais que se tornaram doentes crónicos nessa mesma categoria (13,6%). Os doentes respiratórios que atingiram a cura clínica encontram-se na 2ª categoria e 3ª categoria. A maior parte destes animais encontram-se na 2ª categoria (83,3% de todos os animais que atingiram cura clínica). Na 3ª categoria o único doente respiratório atingiu cura clínica, representando 12,5% do total dos animais nessa categoria e 16,7% do total dos doentes respiratórios que atingiram a cura clínica (tabela 21).

Tabela 21: Cronicidade doença respiratória e divisão por categoria imunidade

						Taxa de Cura na doença respiratória	Taxa de Cronicidade na doença respiratória
		Cura	Cronicidade	Diarreia ou nunca doente	Total		
Categoria 1	Número	0	3	2	5	0	3
	% Categoria Imunidade	,0%	60,0%	40,0%	100,0%	,0%	100,0%
	% Cronicidade doença respiratória	,0%	50,0%	8,7%	14,3%	-	-
	% Total	,0%	8,6%	5,7%	14,3%	-	-
Categoria 2	Número	5	3	14	22	5	3
	% Categoria Imunidade	22,7%	13,6%	63,6%	100,0%	62,5%	37,5%
	% Cronicidade doença respiratória	83,3%	50,0%	60,9%	62,9%	-	-
	% Total	14,3%	8,6%	40,0%	62,9%	-	-
Categoria 3	Número	1	0	7	8	1	0
	% Categoria Imunidade	12,5%	,0%	87,5%	100,0%	100,0%	,0%
	% Cronicidade doença respiratória	16,7%	,0%	30,4%	22,9%	-	-
	% Total	2,9%	,0%	20,0%	22,9%	-	-
Total	Número	6	6	23	35	6	6
	% Divisão por categoria Imunidade	17,1%	17,1%	65,7%	100,0%	-	-
	% Cronicidade doença respiratória	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	-	-
	% Total	17,1%	17,1%	65,7%	100,0%	50,0%	50,0%

Categoria 1 - Ig <500 mg/dl ou 500-1000 mg/dl e PT <5,5 g/dl;

Categoria 2 - Ig 500-1000 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Categoria 3 – Ig >1500 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Para testar a associação entre as duas variáveis: cronicidade de doença respiratória e categoria de imunidade, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 9,340$ e $p = 0,053$, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre cronicidade de doença respiratória e categoria de imunidade: $\chi^2 = 9,340$; gl = 4; $p = 0,053$; para um nível de confiança de 95%.

13.4.9.4 - Cronicidade de doença respiratória e grupo de vitelos

Quanto à taxa de cronicidade de doença respiratória dentro de cada grupo, observa-se que apenas no 1º grupo houve doentes respiratórios crónicos, correspondendo a uma percentagem de doentes respiratórios crónicos de 37,5% no 1º grupo e de 60% de casos de doença respiratória que se tornaram crónicos (tabela 22).

Tabela 22: Cronicidade de doença respiratória e grupo de vitelos

		Doença respiratória crónica			Total	Taxa Cura de na doença respiratória	Taxa de Cronicidade na doença respiratória
		Cura	Cronicidade	Diarreia ou nunca doente			
1º Grupo	Número	4	6	6	16	4	6
	% Grupo	25,0%	37,5%	37,5%	100,0%	40,0%	60,0%
	% Doença respiratória crónica	66,7%	100,0%	26,1%	45,7%	-	-
	% Total	11,4%	17,1%	17,1%	45,7%	-	-
2º Grupo	Número	2	0	17	19	2	0
	% Grupo	10,5%	,0%	89,5%	100,0%	100,0%	,0%
	% Doença respiratória crónica	33,3%	,0%	73,9%	54,3%	-	-
	% Total	5,7%	,0%	48,6%	54,3%	-	-
Total	Número	6	6	23	35	6	6
	% Grupo	17,1%	17,1%	65,7%	100,0%	-	-
	% Doença respiratória crónica	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	-	-
	% Total	17,1%	17,1%	65,7%	100,0%	50,0%	50,0%

Para testar a associação entre as duas variáveis: cronicidade de doença respiratória e grupo de vitelos, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 11,757$ e $p = 0,003$, as variáveis não são consideradas independentes, existe associação estatística entre estas. Os desvios são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre cronicidade de doença respiratória e grupo de vitelos: $\chi^2 = 11,757$; gl = 2; $p = 0,003$; para um nível de confiança de 95%.

13.4.10 - Imunidade nos dois grupos de vitelos

13.4.10.1 - Grupo de vitelos e divisão por categoria imunidade

A categoria de imunidade nos dois grupos apresenta algumas diferenças. No 1º grupo existe uma distribuição menos heterogénea pelas 3 categorias: 25% dos animais na 1ª, 43,8% dos animais na 2ª e 31,3% dos animais na 3ª. Existe maior número de animais na 2ª categoria. No 2º grupo, apesar de também haver maior número de animais na 2ª categoria, a proporção é muito maior, sendo de 78,9%. Na 1ª e 3ª categoria existem apenas 5,3% e 15,8% dos animais respectivamente (tabela 23).

Tabela 23: Grupo de vitelos e divisão por categoria de imunidade

		Divisão por categoria Imunidade			Total
		Categoria 1	Categoria 2	Categoria 3	
1º Grupo	Número	4	7	5	16
	% Grupo	25,0%	43,8%	31,3%	100,0%
	% Categoria Imunidade	80,0%	31,8%	62,5%	45,7%
	% Total	11,4%	20,0%	14,3%	45,7%
2º Grupo	Número	1	15	3	19
	% Grupo	5,3%	78,9%	15,8%	100,0%
	% Categoria Imunidade	20,0%	68,2%	37,5%	54,3%
	% Total	2,9%	42,9%	8,6%	54,3%
Total	Número	5	22	8	35
	% Grupo	14,3%	62,9%	22,9%	100,0%
	% Categoria Imunidade	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% Total	14,3%	62,9%	22,9%	100,0%

Categoria 1 - Ig <500 mg/dl ou 500-1000 mg/dl e PT <5,5 g/dl

Categoria 2 - Ig 500-1000 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Categoria 3 - Ig >1500 mg/dl e PT >5,5 g/dl

13.4.10.2 - 1º Grupo – Categoria de imunidade, incidência, tipo de doença e cronicidade de doença respiratória

A percentagem de animais com doença (doença respiratória ou diarreia) na categoria 1 de imunidade foi de 100%, 75% dos quais com doença respiratória e 25% com diarreia; na categoria 2 houve 85,7% de animais com doença, todos com doença respiratória; na categoria 3 de imunidade houve 40% de animais com doença, 20% com doença respiratória e 20% com diarreia (tabela 24).

Tabela 24: Categoria de imunidade, incidência e tipo de doença no 1º grupo

		Tipo de doença			Total
		Doença respiratória	Diarreia	Sem doença	
Categoria 1	Número	3	1	0	4
	% Categoria Imunidade	75,0%	25,0%	,0%	100,0%
	% Tipo de doença	30,0%	50,0%	,0%	25,0%
	% Total	18,8%	6,3%	,0%	25,0%
Categoria 2	Número	6	0	1	7
	% Categoria Imunidade	85,7%	,0%	14,3%	100,0%
	% Tipo de doença	60,0%	,0%	25,0%	43,8%
	% Total	37,5%	,0%	6,3%	43,8%
Categoria 3	Número	1	1	3	5
	% Categoria Imunidade	20,0%	20,0%	60,0%	100,0%
	% Tipo de doença	10,0%	50,0%	75,0%	31,3%
	% Total	6,3%	6,3%	18,8%	31,3%
Total	Número	10	2	4	16
	% Categoria Imunidade	62,5%	12,5%	25,0%	100,0%
	% Tipo de doença	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% Total	62,5%	12,5%	25,0%	100,0%

Categoria 1 - Ig <500 mg/dl ou 500-1000 mg/dl e PT <5,5 g/dl

Categoria 2 - Ig 500-1000 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Categoria 3 – Ig >1500 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Para testar a associação entre as duas variáveis: incidência de doença no 1º grupo e categoria de imunidade, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 5,029$ e $p = 0,081$, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) – Associação entre incidência de doença no 1º grupo e categoria de imunidade: $\chi^2 = 5,029$; gl = 2; $p = 0,081$; para um nível de confiança de 95%.

Para testar a associação entre as duas variáveis: tipo de doença no 1º grupo e categoria de imunidade, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 7,520$ e $p = 0,111$, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre tipo de doença no 1º grupo e categoria de imunidade: $\chi^2 = 7,520$; gl = 4; $p = 0,111$; para um nível de confiança de 95%.

Na categoria 1 todos os animais com doença respiratória se tornaram doentes crónicos (taxa de cronicidade de 100%), na categoria 2 metade dos animais com doença respiratória tornaram-se doentes crónicos (taxa de cronicidade de 50%) e metade atingiu a cura clínica, na categoria 3 o único animal com doença respiratória atingiu a cura clínica (taxa de cronicidade de 0%) (tabela 25).

Tabela 25: Cronicidade de doença respiratória e categoria de imunidade no 1º grupo

		Cronicidade doença respiratória			Total	Taxa de Cura na doença respiratória	Taxa de Cronicidade na doença respiratória
		Cura	Cronicidade	Diarreia ou nunca doente			
Categoria 1	Número	0	3	1	4	0	3
	% Categoria Imunidade	,0%	75,0%	25,0%	100,0%	,0%	100,0%
	% Cronicidade doença respiratória	,0%	50,0%	16,7%	25,0%	-	-
	% Total	,0%	18,8%	6,3%	25,0%	-	-
Categoria 2	Número	3	3	1	7	3	3
	% Categoria Imunidade	42,9%	42,9%	14,3%	100,0%	50,0%	50,0%
	% Cronicidade doença respiratória	75,0%	50,0%	16,7%	43,8%	-	-
	% Total	18,8%	18,8%	6,3%	43,8%	-	-
Categoria 3	Número	1	0	4	5	1	0
	% Categoria Imunidade	20,0%	,0%	80,0%	100,0%	100,0%	,0%
	% Cronicidade doença respiratória	25,0%	,0%	66,7%	31,3%	-	-
	% Total	6,3%	,0%	25,0%	31,3%	-	-
Total	Número	4	6	6	16	4	6
	% Categoria Imunidade	25,0%	37,5%	37,5%	100,0%	-	-
	% Cronicidade doença respiratória	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	-	-
	% Total	25,0%	37,5%	37,5%	100,0%	40,0%	60,0%

Categoria 1 - Ig <500 mg/dl ou 500-1000 mg/dl e PT <5,5 g/dl

Categoria 2 - Ig 500-1000 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Categoria 3 – Ig >1500 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Para testar a associação entre as duas variáveis: cronicidade de doença respiratória no 1º grupo e categoria de imunidade, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 8,952$ e $p = 0,062$, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre cronicidade de doença respiratória no 1º grupo e categoria de imunidade: $\chi^2 = 8,952$; gl = 4; $p = 0,062$; para um nível de confiança de 95%.

13.4.10.3 - 2º Grupo - Categoria de imunidade, incidência, tipo de doença e cronicidade de doença respiratória

A percentagem de animais com doença (doença respiratória ou diarreia) na categoria 1 de imunidade foi de 0%; na categoria 2 houve 33,3% de animais com doença, dos quais 13,3% com doença respiratória e 20% com diarreia; na categoria 3 de imunidade houve 0% de animais com doença (tabela 26).

Tabela 26: Categoria de imunidade, incidência e tipo de doença no 2º grupo

		Tipo de doença			Total
		Doença respiratória	Diarreia	Sem doença	
Categoria 1	Número	0	0	1	1
	% Categoria Imunidade	,0%	,0%	100,0%	100,0%
	% Tipo de doença	,0%	,0%	7,1%	5,3%
	% Total	,0%	,0%	5,3%	5,3%
Categoria 2	Número	2	3	10	15
	% Categoria Imunidade	13,3%	20,0%	66,7%	100,0%
	% Tipo de doença	100,0%	100,0%	71,4%	78,9%
	% Total	10,5%	15,8%	52,6%	78,9%
Categoria 3	Número	0	0	3	3
	% Categoria Imunidade	,0%	,0%	100,0%	100,0%
	% Tipo de doença	,0%	,0%	21,4%	15,8%
	% Total	,0%	,0%	15,8%	15,8%
Total	Número	2	3	14	19
	% Categoria Imunidade	10,5%	15,8%	73,7%	100,0%
	% Tipo de doença	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% Total	10,5%	15,8%	73,7%	100,0%

Categoria 1 - Ig <500 mg/dl ou 500-1000 mg/dl e PT <5,5 g/dl

Categoria 2 - Ig 500-1000 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Categoria 3 - Ig >1500 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Para testar a associação entre as duas variáveis: incidência de doença no 2º grupo e categoria de imunidade, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 1,810$ e $p = 0,405$, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre incidência de doença no 2º grupo e categoria de imunidade: $\chi^2 = 1,810$; gl = 2; $p = 0,405$; para um nível de confiança de 95%.

Para testar a associação entre as duas variáveis: tipo de doença no 2º grupo e categoria de imunidade, foi efectuado o teste estatístico do Qui-quadrado. Com o valor de $\chi^2 = 1,810$ e $p = 0,771$, as variáveis são consideradas independentes, não existe associação estatística entre estas. Os desvios não são significativos.

Teste Qui-quadrado (χ^2) - Associação entre tipo de doença no 2º grupo e categoria de imunidade: $\chi^2 = 1,810$; gl = 4; $p = 0,771$; para um nível de confiança de 95%.

Todos os animais com doença respiratória atingiram a cura clínica (taxa de cronicidade de doença respiratória de 0%) (tabela 27).

Tabela 27: Cronicidade de doença respiratória e categoria de imunidade no 2º grupo

		Cronicidade doença respiratória			Total	Taxa de Cronicidade na doença respiratória	Taxa de Cura na doença respiratória
		Cura	Cronicidade	Diarreia ou nunca doente			
Categoria 1	Número	0	0	1	1	0	0
	% Categoria Imunidade	,0%	,0%	100,0%	100,0%	,0%	,0%
	% Cronicidade doença respiratória	,0%	,0%	5,9%	5,3%	-	-
	% Total	,0%	,0%	5,3%	5,3%	-	-
Categoria 2	Número	2	0	13	15	2	0
	% Categoria Imunidade	13,3%	,0%	86,7%	100,0%	100,0%	,0%
	% Cronicidade doença respiratória	100,0%	,0%	76,5%	78,9%	-	-
	% Total	10,5%	,0%	68,4%	78,9%	-	-
Categoria 3	Número	0	0	3	3	0	0
	% Categoria Imunidade	,0%	,0%	100,0%	100,0%	,0%	,0%
	% Cronicidade doença respiratória	,0%	,0%	17,6%	15,8%	-	-
	% Total	,0%	,0%	15,8%	15,8%	-	-
Total	Número	2	0	17	19	2	0
	% Categoria Imunidade	10,5%	,0%	89,5%	100,0%	-	-
	% Cronicidade doença respiratória	100,0%	,0%	100,0%	100,0%	-	-
	% Total	10,5%	,0%	89,5%	100,0%	100,0%	,0%

Categoria 1 - Ig <500 mg/dl ou 500-1000 mg/dl e PT <5,5 g/dl

Categoria 2 - Ig 500-1000 mg/dl e PT >5,5 g/dl

Categoria 3 - Ig >1500 mg/dl e PT >5,5 g/dl

13.5 - Discussão de resultados

Os resultados e observações obtidos neste estudo permitiram elaborar uma discussão mais alargada do que inicialmente proposto pelos objectivos, sendo no entanto, interessante pelas conclusões possíveis.

13.5.1 - Limitações

Uma consideração importante é a idade dos vitelos que fizeram parte do estudo. Dos 45 vitelos escolhidos aleatoriamente para fazerem parte do estudo, 10 foram excluídos por terem idade superior a 21 dias (limite de idade estabelecido para o estudo). A idade média dos 35 animais estudados na altura da recolha de sangue era de 14,9 dias. Esta não é a idade ideal para a realização de análises para pesquisa de falha de transferência imunitária, pois nesta idade a concentração de proteína total e imunoglobulinas séricas não são apenas consequência da ingestão de colostro e da transferência de imunidade passiva. Nesta idade as imunoglobulinas maternas já estão em declínio, já existe produção endógena de imunoglobulinas pelo vitelo e a concentração de proteína sérica também sofre alterações de acordo com a dieta (Quigley, 2000). No entanto, os valores obtidos nesta idade ainda estão relacionados com o nível de transferência imunitária passiva, devendo, por isso, servir de referência, como indicador aproximado do estado imunitário dos vitelos (Quigley, 2000). A concentração de imunoglobulinas no colostro está relacionada com as concentrações séricas nos vitelos até às 5 semanas de vida para a IgG, 3 semanas para a IgA e 24-36h para a IgM (Burton, Kennedy, Burnside, Wilkie & Burton, 1989). As meias-vidas da IgG, IgM e IgA são de 20, 4 e 2 dias respectivamente (Radostitis *et al.*, 2000). Os níveis de imunoglobulinas maternas descem até às 3-4 semanas de vida (McGuirk, 1998), sendo atingidos níveis mínimos de IgG aos 60 dias (Radostitis *et al.*, 2000).

Outra consequência da exclusão dos 10 vitelos do estudo com idade superior a 21 dias foi a redução do tamanho da amostra estudada, reduzindo a representatividade do estudo em relação à população original.

Outra limitação que este estudo teve foi a impossibilidade de realizar hemogramas por limitações económicas. A utilidade dos mesmos seria atestar a gravidade da doença respiratória e determinar o estado de desidratação dos vitelos. Esta informação seria útil para saber se os valores de proteína total estariam majorados por desidratação.

13.5.2 – Classificação dos animais em relação à imunidade passiva

Quanto à classificação dos animais em relação à sua imunidade passiva, usando apenas os valores de proteína total sérica como indicadores, considerando como falha de transferência

imunitária passiva <5,5 g/dl, havia apenas 8,6% de vitelos. Subindo o limite para <6 g/dl, havia 57,1% de vitelos com estes valores de proteína total sérica. Mudando o limite de classificação da sérica total apenas de 5,5 para 6 g/dl ocorre uma grande diferença nas classificações possíveis. Isto mostra que uma parte considerável dos animais tem valores de proteína total sérica entre 5,5 e 6 g/dl, e que a maioria dos vitelos tinha <6 g/dl de proteína total sérica. Estes valores de proteína encontram-se no limite do considerado como uma quantidade de proteína total sérica indicadora de transferência imunitária passiva eficaz. Tendo ainda em conta que níveis de desidratação subclínicos poderiam estar presentes na altura da recolha de sangue, estes níveis de proteína podem estar falsamente elevados, pelo que se pode pôr a hipótese de que a maior parte dos animais tinha valores de proteína total sérica considerados insuficientes. A única indicação do estado de hidratação usada foi o exame físico. Através do exame físico, níveis de desidratação até 6% não são detectados.

Tomando apenas os níveis de imunoglobulinas como indicador de transferência de imunidade passiva, 77,1% dos animais são classificados como tendo falha de transferência de imunidade passiva e 22,9% com transferência imunitária passiva adequada. A percentagem de animais com falha na transferência de imunidade passiva inclui animais classificados na concentração de <500 mg/dl (8,6% dos animais) e de 500-1000 mg/dl (68,6% dos animais). A concentração de imunoglobulinas entre 500-1000 mg/dl deve ser considerada como falha de transferência imunitária, uma vez que apesar de poder haver animais com imunidade passiva adequada nesta classificação, este intervalo de classificação também engloba animais com falha de transferência imunitária passiva (concentrações de Ig considerados adequados: >1000 mg/dl). Conjugando os dois resultados obtidos de concentração de imunoglobulinas e proteína total sérica, consideraram-se três categorias de imunidade. Na categoria 1 (Ig <500 mg/dl ou 500-1000 mg/dl com <5,5 g/dl PT) havia 14,3% dos animais, na categoria 2 (Ig 500-1000 mg/dl e >5,5 g/dl PT) havia 62,9% dos animais e na categoria 3 (Ig >1500 mg/dl e >5,5 g/dl PT) havia 22,9% dos animais. Através desta divisão, dois vitelos com níveis de imunoglobulinas entre 500-1000 mg/dl mas com <5,5 g/dl de proteína total sérica foram incluídos na categoria 1 de imunidade e dois vitelos com >5,5 g/dl de proteína total sérica também foram incluídos na categoria 1 por terem <500 mg/dl de imunoglobulinas. O número de vitelos da 3ª categoria correspondeu ao número de vitelos com >1500 mg/dl o que evidencia que para estes valores de imunoglobulinas, os valores de proteína total sérica também eram adequados, ambos indicando transferência imunitária adequada. Com esta divisão, os vitelos classificados com categoria 1 são considerados como tendo falha de transferência de imunidade passiva. Os vitelos da categoria 2 têm níveis de proteína total sérica considerados adequados (>5,5 g/dl) mas a classificação de imunoglobulinas (500-1000 mg/dl) não permite afirmar que todos os

animais dessa categoria possuam níveis de imunidade adequados. Concluindo, pode-se dizer que 14,3% (categoria 1) dos animais têm falha de transferência imunitária passiva, que 62,9% (categoria 2) dos animais podem ter falha de transferência de imunidade passiva e que 22,9% (categoria 3) dos animais têm níveis de imunidade passiva adequados.

13.5.3 – Incidência de doença

A incidência de doença total (doença respiratória ou diarreia) observada neste estudo foi de 48,6%. Relacionou-se a incidência total de doença com os valores de proteína total sérica, níveis de imunoglobulinas, categorias de imunidade e com o grupo de vitelos.

Em relação aos valores de proteína total sérica, parece verificar-se que animais com maiores valores de proteína total sérica apresentam menores incidências de doença total, apesar do teste estatístico do Qui-quadrado não indicar associação entre as duas variáveis. Nos intervalos de]5; 5,5] e]5,5; 6] g/dl, a percentagem de animais com doença (66,7% e 64,7% respectivamente) foi superior à percentagem de animais sem doença (33,3% e 35,3% respectivamente) em ambos os intervalos. Nos intervalos de]6; 6,5[e]6,5; 7[g/dl a percentagem de animais com doença (22,2% e 33,3% respectivamente) foi inferior à percentagem de animais sem doença (77,8% e 66,7% respectivamente) em ambos os intervalos.

Em relação à concentração de imunoglobulinas, também parece verificar-se uma menor incidência de doença com maiores concentrações de imunoglobulinas (66,7%; 54,2% e 25% nos níveis <500, 500-1000 e >1500 mg/dl respectivamente). Nos dois primeiros níveis, <500 e entre 500-1000 mg/dl, a percentagem de animais com doença (66,7% e 54,2% respectivamente) é superior à de animais saudáveis (33,3% e 45,8% respectivamente). Na concentração de >1500 mg/dl a percentagem de animais com doença (25%) é inferior à de animais saudáveis (75%). O teste do Qui-quadrado também não revelou associação estatística. Relacionando as categorias de imunidade (concentração de imunoglobulinas e proteína total sérica) com a incidência de doença, também parece verificar-se que a incidência de doença diminui com maiores níveis de imunidade e que a proporção de animais doentes em relação à de animais saudáveis também se altera. Na 1ª categoria a proporção de animais saudáveis (20%) é inferior à de doentes (80%), na 2ª categoria a proporção é igual (50% cada) e na 3ª categoria a proporção de animais saudáveis (75%) é superior à de doentes (25%). O teste do Qui-quadrado também não revelou associação estatística.

Independentemente de usar os indicadores de imunidade passiva individualmente ou em conjunto para relacionar com a incidência de doença, analisando os dados verifica-se sempre uma diminuição da incidência total de doença com maiores valores de proteína total sérica e

maiores níveis de imunoglobulinas. Esta aparente associação que é constante, também sugere que os valores de proteína total sérica e os níveis de imunoglobulinas estão relacionados, variando em conjunto e influenciando a susceptibilidade a doença dos vitelos.

Relacionando o grupo de vitelos com a incidência de doença, observou-se uma grande diferença entre os dois grupos. É evidente que a maior parte dos casos clínicos observados ocorreram em animais pertencentes ao 1º grupo (70,6% dos casos clínicos). Em oposição, no 2º grupo estavam a maior parte dos animais que não sofreram nenhum episódio de doença (77,8% dos animais saudáveis). Para estas duas variáveis existe associação estatística evidenciada pelo teste exacto de “Fisher” ($p = 0,005$ para um nível de confiança de 95%).

13.5.4 – Tipo de doença observado

Os casos clínicos observados consistiram em doença respiratória (70,6%) e diarreia (29,4%). No total dos animais estudados houve uma incidência de 34,3% de doença respiratória e de 14,3% de diarreia. Relacionou-se o tipo de doença com as mesmas variáveis referidas anteriormente.

Em relação à doença respiratória, a maior parte dos casos ocorreram em animais com]5,5; 6] g/dl de proteína total sérica, parecendo não haver nenhuma relação lógica entre as duas variáveis, uma vez que tanto nos intervalos com menos proteína total sérica como nos intervalos com mais proteína total sérica, a proporção de doença respiratória foi quase inexistente.

Em relação à concentração de imunoglobulinas, já parece haver uma relação pois a proporção de doença respiratória foi maior para menores níveis de imunoglobulinas (<500 mg/dl com 66,7%, 500-1000 mg/dl com 37,5% e >1500 mg/dl com 12,5%), apesar do teste do Qui-quadrado não apontar associação estatística. Estas percentagens de incidência de doença respiratória são muito semelhantes às encontradas usando as categorias de imunidade (60% na 1ª, 36,4% na 2ª e 12,5% na 3ª categoria). Tendo estes resultados em consideração, parece haver maior relação entre a incidência de doença respiratória e a concentração de imunoglobulinas que com os valores de proteína total sérica.

Em relação à incidência de diarreia parece não haver relação com os valores de proteína total e de imunoglobulinas séricos, pois a distribuição de casos foi bastante homogênea entre os vários intervalos de proteína total sérica, níveis de imunoglobulinas e categorias de imunidade. Relacionando o grupo de vitelos com a distribuição dos casos clínicos, verifica-se que a maior parte dos casos de doença respiratória pertencem ao 1º grupo (83,3%) e que a incidência de diarreia foi bastante semelhante, 12,5% e 15,8%, entre o 1º e o 2º grupo

respectivamente. Esta associação é estatisticamente validada pelo teste do Qui-quadrado ($\chi^2 = 10,912$, gl = 2, p = 0,004).

13.5.5 – Cronicidade de doença respiratória

A taxa de cronicidade de doença respiratória foi de 50% nos doentes respiratórios e de 17,1% no total dos animais em estudo.

Relacionando os valores de proteína total sérica com a taxa de cronicidade e cura de doença respiratória, parece não haver associação. No intervalo de]5; 5,5] g/dl o único animal (33,3% nesse intervalo) com doença respiratória tornou-se doente crónico (100% de taxa de cronicidade), no intervalo]5,5; 6] g/dl 23,5% dos animais desse intervalo tornaram-se doentes crónicos e 35,3% atingiram a cura. Neste intervalo a taxa de cura (60%) foi superior à de cronicidade (40%). No intervalo]6; 6,5[g/dl não houve casos de doença respiratória e no intervalo]6,5; 7[g/dl houve um caso de doença respiratória que se tornou doente crónico (100% de taxa de cronicidade). O teste do Qui-quadrado para estas duas variáveis, apesar de ter um valor elevado, não indica associação estatística entre as variáveis.

Analisando a concentração de imunoglobulinas, as categorias de imunidade e as taxas de cronicidade de doença respiratória correspondentes, parece haver uma relação, diminuindo a proporção de doentes crónicos e aumentando a proporção de animais que atingiram a cura com o aumento da categoria de imunidade. Em relação à concentração de imunoglobulinas, na concentração de <500 mg/dl, 100% dos casos de doença respiratória nessa concentração tornaram-se crónicos; na concentração entre 500-1000 mg/dl, 44,4% dos casos de doença respiratória tornaram-se crónicos e 55,5% atingiram a cura; na concentração de >1500mg/dl, 100% dos casos de doença respiratória atingiram a cura. O teste do Qui-quadrado não aponta associação estatística entre estas duas variáveis. Em relação às categorias de imunidade, na 1ª houve 100% de taxa de cronicidade, na 2ª houve 37,5% de taxa de cronicidade e 62,5% de taxa de cura e na 3ª houve 100% de taxa de cura. O teste do Qui-quadrado também não aponta associação estatística entre estas duas variáveis.

Relacionando a taxa de cronicidade com o grupo de vitelos verifica-se que para além da maior incidência de doença respiratória, também foi apenas no 1º grupo que houve casos de doença respiratória crónica, em que 60% dos animais com doença respiratória se tornaram doentes crónicos. Também esta associação é validada estatisticamente pelo teste do Qui-quadrado ($\chi^2 = 11,757$, gl = 2, p = 0,003).

13.5.6 – Imunidade passiva nos dois grupos de vitelos

Devido às grandes diferenças de incidência de doença respiratória e de cronicidade da mesma entre os dois grupos de vitelos, estudou-se a imunidade em separado dos dois grupos para

tentar perceber se a imunidade teve influência nestas diferenças e se se revelou importante para a resistência à doença respiratória. A distribuição dos animais pelos níveis de imunidade nos dois grupos é um pouco diferente. O 1º grupo tem a seguinte distribuição: 25% na categoria 1; 43,8% na categoria 2 e 31,3% na categoria 3. O 2º grupo tem a seguinte distribuição: 5,3% na categoria 1; 78,9% na categoria 2 e 15,8% na categoria 3. Ambos têm maior proporção de animais na 2ª categoria mas no 2º grupo é muito mais marcada. O 1º grupo tem maior proporção de animais na 1ª e 3ª categoria que o 2º grupo. No 1º grupo 75,1% dos animais estavam na categoria 2 e 3 e no 2º grupo 94,7% dos animais estavam na categoria 2 e 3. Com base nestes dados, aparentemente o 2º grupo possuía melhores níveis de imunidade que o 1º grupo.

No 1º grupo a percentagem de animais doentes na categoria 1 de imunidade foi de 100%, 75% dos quais com doença respiratória e 25% com diarreia; na categoria 2 houve 85,7% de animais doentes, todos com doença respiratória; na categoria 3 de imunidade houve 40% de animais com doença, 20% com doença respiratória e 20% com diarreia. Na categoria 1, a taxa de cronicidade de doença respiratória foi de 100%, na categoria 2 a taxa de cronicidade de doença respiratória foi de 50% e na categoria 3 a taxa de cronicidade de doença respiratória foi de 0%, ou seja 100% de taxa de cura. Apenas um animal morreu durante o estudo (2,8% do total de animais e 6,3% no grupo), este era um vitelo com uma concentração de imunoglobulinas de <500 mg/dl e 6 g/dl de proteína total sérica, sofria de doença respiratória crónica e fazia parte do 1º grupo.

No 1º grupo parece haver uma influência dos níveis de imunidade na incidência de doença, uma vez que esta diminui com maiores níveis de imunidade. Não parece haver relação entre os níveis de imunidade e tipo de doença, mas entre os níveis de imunidade e a taxa de cronicidade parece haver. As taxas de cronicidade de doença respiratória são menores para maiores níveis de imunidade.

No 2º grupo a percentagem de animais doentes na categoria 1 de imunidade foi de 0%; na categoria 2 houve 33,3% de animais doentes, dos quais 13,3% com doença respiratória e 20% com diarreia; na categoria 3 de imunidade houve 0% de animais com doença. Não houve casos de doença respiratória crónica neste grupo de vitelos, todos os doentes respiratórios atingiram a cura clínica. No 2º grupo a incidência de doença ocorreu apenas em animais com categoria 2 de imunidade, não parecendo haver relação entre as duas variáveis.

13.5.7 – Alojamento dos vitelos

Verificam-se grandes diferenças nos índices de saúde entre os dois grupos. A principal diferença entre os dois grupos de vitelos era o alojamento em que ficaram dentro da

exploração. Os animais entraram na exploração com uma semana de diferença. O 1º grupo de 16 animais foi colocado dentro de um pavilhão fechado, enquanto que o 2º grupo, de 19 animais, foi colocado em casotas no exterior. Este factor de diferença de alojamento revelou-se muito importante na incidência de doença, principalmente na de doença respiratória. Apesar de os vitelos pertencentes ao 1º grupo estarem no interior do pavilhão e por isso sujeitos a menores variações de temperatura e protegidos das condições meteorológicas, foram os que apresentaram maiores taxas de doença respiratória e de cronicidade da mesma. No exterior o ar é sempre fresco em oposição ao interior do pavilhão em que a renovação do ar depende apenas de ventilação natural através de janelas e a fenda no tecto. A ventilação parece ter sido o principal factor determinante na diferença nos níveis de saúde entre os dois grupos.

A doença respiratória revelou-se o principal problema desta exploração (70,6% dos casos clínicos foram de doença respiratória). Existe também uma elevada taxa de doentes que se tornam crónicos (50%). Portanto, uma discussão mais abrangente é necessária para tentar perceber as causas que predispõem esta exploração para tão altas taxas de doença respiratória (34,3%) e de cronicidade (17,1%) no total dos animais em estudo.

15.5.8 – Alimentação dos vitelos

A alimentação pode ser outro factor com influência na saúde dos vitelos. Alguns aspectos nas práticas de alimentação nesta exploração não são os mais aconselhados. Os animais chegam com idades médias inferiores a 3 semanas (alguns com 9 dias), altura a partir da qual conseguem digerir proteína não láctea ou polissacáridos. Todos os animais são alimentados indiscriminadamente com leite de substituição à base de proteína vegetal, o que resulta, nos animais mais novos, numa insuficiência nutricional. A quantidade de leite fornecida, 6 litros em divididos em duas refeições, corresponde a 13% do peso corporal para vitelos de 45kg, o que é considerado suficiente. Os vitelos têm pouca gordura corporal e dependem do leite para produzirem calor corporal. Quando as temperaturas são mais baixas, a quantidade de leite fornecida deveria ser aumentada ou fornecido um leite com maior percentagem de gordura. A alimentação dos animais doentes também poderia ser diferente, pois animais sujeitos a desafios inflamatórios e infecciosos têm consumos energéticos muito superiores a animais saudáveis, além do que o seu apetite está muito diminuído, resultando numa deficiência energética. Isto afecta negativamente o funcionamento do sistema imunitário. Uma dieta altamente palatável e maiores quantidades de leite deveriam ser fornecidas. O “*starter*”, ou alimento concentrado fornecido é em forma de farelo, o que não é a forma mais apropriada, pois os vitelos atingem maiores ingestões quando este é em forma de granulado.

O facto de serem os mesmos baldes usados para fornecer leite e água, pela não existência de separadores entre estes e os baldes de alimento concentrado e pela falta de higiene dos mesmos, tem como consequência a água estar sempre suja, o que diminui a apetência dos vitelos para esta. O consumo de água pode estar limitado por estas razões e como este é um factor essencial para o consumo de alimento concentrado estas circunstâncias podem estar a limitar o consumo de alimento concentrado como consequência. A conspurcação dos baldes de alimento concentrado com água e vice-versa pode ser evitado com recurso a separadores de baldes como ilustrado na figura 9.



Figura 9 - Exemplo de separador de baldes

13.5.9 – Factores de “stress”

Um outro factor que pode estar a condicionar a saúde dos vitelos é o “stress” a que são sujeitos no transporte até à exploração, no descarregamento, que implica contacto directo com humanos, na mudança de ambiente, alimentação e rotinas. Nesta altura existe também uma mistura de animais de várias proveniências aumentando a probabilidade de contacto com agentes patogénicos diferentes. Fornecer uma dieta altamente palatável nesta altura pode facilitar a adaptação dos vitelos à nova exploração. É neste período de imunodepressão que provavelmente se desenvolvem as condições para o desenvolvimento de doença respiratória. A maior parte dos casos de doença respiratória foram detectados 2-3 semanas após a chegada à exploração, período de tempo necessário até ao estabelecimento de doença respiratória com sinais clínicos evidentes.

13.5.10 – Plano de vacinação

O plano de vacinação contempla os principais agentes virais envolvidos na doença respiratória. Não é efectuada vacinação para os agentes bacterianos, no entanto estas bactérias fazem parte da flora normal do aparelho respiratório bovino e a infecção por estas é de natureza oportunista. A vacinação é efectuada duas semanas após a chegada dos vitelos à exploração, o que permite descanso e adaptação dos animais e aumenta a possibilidade de boa resposta vacinal. Apesar disto, uma vez que os animais já foram sujeitos a transportes, mudanças de ambiente, mistura com outros animais e “stress”, a doença respiratória pode já estar presente em muitos animais na altura da vacinação, como se verificou quando se detectaram a maior parte dos casos de doença respiratória 2-3 semanas após a chegada dos vitelos à exploração.

13.5.11 – Medidas de biossegurança

Quando são identificados animais doentes nesta exploração, não são tomadas medidas de biossegurança. O ideal seria existir uma área hospitalar na exploração, para evitar o contacto dos animais doentes com os saudáveis e assim evitar a propagação de doença e permitir um maneio mais adequado destes animais.

De uma maneira geral, qualquer factor de “*stress*” pode influenciar a saúde dos animais. São vários os factores que podem ter esta influência tais como o maneio, nutrição, instalações, estado de imunidade, pressão microbiana, planos de controlo de doença presentes, entre outros.

14 - Conclusões

A saúde, bem-estar e crescimento dos vitelos estão dependentes de vários factores. O factor principal investigado neste trabalho foi o estado da imunidade passiva. É visível que a incidência de doença diminui com o aumento do nível de imunidade mas a relação não é estatisticamente significativa. Outros factores são responsáveis pelo aumento da susceptibilidade a doença nesta exploração. Foram observadas elevadas incidências de doença não relacionadas com o estado imunitário dos vitelos. Percebe-se que o factor alojamento desempenha um papel preponderante na ocorrência de doença respiratória nesta exploração sendo esta relação estatisticamente significativa. Os vitelos alojados no exterior apresentaram incidências de doença respiratória muito baixas e inferiores às dos animais alojados dentro do pavilhão. Nenhum animal alojado em casotas ficou com sequelas, o que indica que a própria recuperação e cura é facilitada pela melhor ventilação. Estas observações confirmam que as casotas individuais no exterior são melhores para a prevenção de doença respiratória bovina devido principalmente à melhor qualidade do ar. Pode afirmar-se que o factor ventilação foi a principal influência na ocorrência e manutenção de doença. A combinação com outros factores como o “*stress*” inerente ao transporte e mudança de exploração, alimentação fornecida, práticas de maneio e biossegurança têm como consequência as elevadas taxas de doença respiratória observadas.

15 - Bibliografia

- Arthington, J.D. (2006) Colostrum management in newborn calves. Acedido a Maio, 5, 2011, disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/AN110>
- Beam, A.L., Lombard, J.E., Kopral, C.A., Garber, L.P., Winter, A.L., Hicks, J.A., Schlater, J.L. (2009) Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations, *Journal of Dairy Science*, 92(8), pp. 3973-80.
- Besser, T.E. & Gay, C.C. (1999) Failure of passive transfer in calves. *The Bovine Proceedings*, 32, pp.170-173.
- Burton, J.L., Kennedy, B.W., Burnside, E.B., Wilkie, B.N., Burton, J.H. (1989) Variation in Serum Concentrations of Immunoglobulins G, A, and M in Canadian Holstein-Friesian Calves, *Journal of Dairy Science*, 72, pp.135-149.
- Callegari-Jacques, S.M. (2004) Bioestatística, Princípios e aplicações (1ª reimpressão). Porto Alegre: Artmed.
- Carrol, J.A. & Forsberg, N.E. (2007) Influence of Stress and Nutrition on Cattle Immunity, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 23, pp. 105-150.
- Chase, C.C.L., Hurley D.J. & Reber A.J. (2008) Neonatal Immune Development in the Calf and Its Impact on Vaccine Response, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 24, pp.87-104.
- Chigerwe, M. & Tyler, J.W. (2010) Serum IgG concentrations after intravenous serum transfusion in a randomized clinical trial in dairy calves with inadequate transfer of colostral immunoglobulins, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24, pp. 231-234.
- Corke, M.J. (2010) The use of colostrum and colostrum supplements in neonatal calves, *Cattle Practice*, vol 18 part 3, pp.216-218.
- Cortese, V.S. (2009) Neonatal Immunology, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 25, pp. 221-227.
- Drackley, J.K. (2008) Calf Nutrition from Birth to Breeding, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 24, pp.55-86.
- Edwards, T.A. (2010) Control Methods for Bovine Respiratory Disease for Feedlot Cattle, *Veterinary clinics: Food animal practice*, 26, pp. 273-284.
- Fecteau, G., Smith, B.P., & George, L.W. (2009) Septicemia and Meningitis in the Newborn Calf, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 25, pp.195-208.
- Feitosa, F.L.F, Camargo, D.G, Yanaka, R., Mendes, L.C.N., Peiró, J.R., Bovino, F., Lisboa, J.A.N., Perri, S.H.V. & Gasparelli, E.R.F. (2010) Índices de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) em bezerros holandeses e nelores, às 24 e 48 horas de vida: valores de proteína total, de gamaglobulina, de imunoglobulina G e da atividade sérica de gamaglutamiltransferase, para o diagnóstico de FTIP, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 30, pp. 696-704.

- Foster, D.M. & Smith, G.W. (2009) Pathophysiology of diarrhea in calves, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 25, pp.13-36.
- French, T.W., Blue, J.T. & Stokol, T.. Cornell University College of Veterinary Medicine eClinPath the online textbook. Acedido em Jun. 15, 2011, em: <http://ahdc.vet.cornell.edu/clinpath/modules/chem/hypergl.htm>
- Godden, S. (2008) Colostrum Management for Dairy Calves, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 24, pp.19-39.
- Gorden, P.J. & Plummer, P. (2010) Control, Management, and Prevention of Bovine Respiratory Disease in Dairy Calves and Cows, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 26, pp. 243-259.
- Grove-White, D.H., Aber, G., Cefnddwysarn, Bala & Gwynedd (1998) The first two weeks of life- a high risk period, *Cattle Practice*, vol. 6 part 1, pp. 25-28.
- Hunt, E. Diarrheal diseases of neonatal calves, *Neonatal disease and disease management*, pp. 56-61.
- Leadley, S. (2011) Passive transfer of immunity: How to test for immunity levels. Acedido a Julho, 27, 2011, disponível em: <http://www.atticacows.com/documentView.asp?docID=2095>
- Meinert, J.E & Hurley, W.L. (1998) What is an adequate amount of colostrums for a calf? Acedido a Abril, 20, 2011, disponível em: <http://www.traill.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=260>
- McGuirk, S.M. (1998) Colostrum: Quality and quantity, *Cattle Practice*, vol 6 parte 1, pp.63-66.
- McGuirk, S.M. (2008) Disease management of dairy calves and heifers, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 24, pp. 139-153.
- Nickel, J.S. & White, B.J. (2010) Metaphylactic Antimicrobial Therapy for Bovine Respiratory Disease in Stocker and Feedlot Cattle, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 26, pp. 285-301.
- Nordlund, K.V. (2008) Practical Considerations for Ventilating Calf Barns in Winter, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 24, pp. 41-54.
- Ogilvie, T.H. (2005) *Large animal internal medicine* (5ª edição). Iowa: Blackwell Publishing Ltd.
- Quigley, J. (1998). Calf Note #39 – Using a refractometer. Acedido a Maio, 15, 2011, disponível em: <http://www.calfnotes.com/pdf/CN039.pdf>
- Quigley, J. (2000). Calf Note #62 – Calf Age, Total Protein and FPT in Calves. Acedido a Maio, 15, 2011, disponível em: <http://www.calfnotes.com/pdf/CN062.pdf>

- Quigley, J. (2003) Calf Note #91 - Probiotics in calf feeding programs. Acedido a Maio 25, 2011, disponível em: <http://www.calfnotes.com/pdf/CN091.pdf>
- Quigley, J. (2004). Calf Note #103 – Oligosaccharides as nutraceuticals for calves. Acedido a Maio, 15, 2011, disponível em: <http://www.calfnotes.com/pdf/CN103.pdf>
- Radostitis, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C & Hinchcliff, K.W. (2000) *Clínica Veterinária - Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos* (9ª edição). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Stilwell, G. & Matos, M.. Doença respiratória bovina.
- Swan, H., Godden, S., Bey, R., Wells, S., Fetrow, J. & Chester-Jones, H. (2007) Passive transfer of immunoglobulin G and preweaning health in Holstein calves fed a commercial colostrums replacer, *Journal of Dairy Science*, 90, pp.3857-3866.
- Sweiger, S.H. & Nichols, M.D. (2010) Control Methods for Bovine Respiratory Disease in Stocker Cattle, *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 26, pp. 261-271.
- Thrall, M.A., Baker, D.C. Campbell, T.W., DeNicola, D., Fettman, M.J., Lassen, E.D., Rebar, A. & Weiser, G. (2004) *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry* (pp.403-411). USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- The Merck Veterinary Manual (2010). Circulatory system: Anemia: Regenerative Anemia: Hemolytic Anemia. Acedido a Jul., 22, 2011, em <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/10203.htm>
- VMRD (2004) BOVA-S: A Field Test for Diagnosis of Failure of Passive Transfer in Calves. Acedido a Abr. 10, 2011, disponível em: <http://www.vmr.com/docs/Immuno/BOVA-S%20Procedure.htm>
- Waldner, C.L. & Rosengren, L.B. (2009) Factors associated with serum immunoglobulin levels in beef calves from Alberta and Saskatchewan and association between passive transfer and health outcomes, *Canadian Veterinary Journal*, 50, pp. 275-281.
- Weaver, D.M., Tyler, J.W., VanMetre, D.C., Hostetler, D.E. & Barrington, G.M (2000) Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14, pp.569-577 .

16 - Anexos

I - Tabela valores críticos da distribuição do Qui-quadrado

TABELA A6 Valores críticos da distribuição qui-quadrado (χ^2)

gl	α					
	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	1,64	2,71	3,84	5,41	6,63	10,83
2	3,22	4,61	5,99	7,82	9,21	13,82
3	4,64	6,25	7,81	9,84	11,34	16,27
4	5,99	7,78	9,49	11,67	13,28	18,47
5	7,29	9,24	11,07	13,39	15,09	20,51
6	8,56	10,64	12,59	15,03	16,81	22,46
7	9,80	12,02	14,07	16,62	18,48	24,32
8	11,03	13,36	15,51	18,17	20,09	26,12
9	12,24	14,68	16,92	19,68	21,67	27,88
10	13,44	15,99	18,31	21,16	23,21	29,59
11	14,63	17,28	19,68	22,62	24,73	31,26
12	15,81	18,55	21,03	24,05	26,22	32,91
13	16,98	19,81	22,36	25,47	27,69	34,53
14	18,15	21,06	23,68	26,87	29,14	36,12
15	19,31	22,31	25,00	28,26	30,58	37,70
16	20,47	23,54	26,30	29,63	32,00	39,25
17	21,61	24,77	27,59	31,00	33,41	40,79
18	22,76	25,99	28,87	32,35	34,81	42,31
19	23,90	27,20	30,14	33,69	36,19	43,82
20	25,04	28,41	31,41	35,02	37,57	45,31
21	26,17	29,62	32,67	36,34	38,93	46,80
22	27,30	30,81	33,92	37,66	40,29	48,27
23	28,43	32,01	35,17	38,97	41,64	49,73
24	29,55	33,20	36,42	40,27	42,98	51,18
25	30,68	34,38	37,65	41,57	44,31	52,62
26	31,79	35,56	38,89	42,86	45,64	54,05
27	32,91	36,74	40,11	44,14	46,96	55,48
28	34,03	37,92	41,34	45,42	48,28	56,89
29	35,14	39,09	42,56	46,69	49,59	58,30
30	36,25	40,26	43,77	47,96	50,89	59,70

Adaptado de Callegari-Jacques, 2004